

Einfluss von $\text{TNF}\alpha$ auf lineare und nichtlineare Komponenten von Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen und deren Interaktion im Rattenmodell

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Stefanie Adamczyk
geb. am 04.08.1979 in Suhl

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. Reinhard Bauer, Jena
2. Prof. Dr. ing. Dirk Hoyer, Jena
3. PD Dr. med. Harald Fritz, Halle/Saale

Tag der öffentlichen Verteidigung: 06.03.2012

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IV
1. ZUSAMMENFASSUNG	1
2. EINLEITUNG	3
2.1. Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen – physiologische Grundlagen	4
2.1.1. Regulation der Herzfrequenz	4
2.1.2. Regulation des Blutdrucks	5
2.1.3. Komponenten der Herzfrequenzvariabilität, Blutdruckfluktuationen sowie deren Kopplung	6
2.2. Parameter der Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen	11
2.2.1. Lineare Parameter	11
2.2.2. Nichtlinearität und nichtlineare Parameter	12
2.3. Veränderungen der Variabilitätsparameter bei ausgewählten Krankheitsbildern	16
2.4. Tumor-Nekrose-Faktor α	17
3. ZIELE DER ARBEIT	21
4. MATERIAL UND METHODE	23
4.1. Versuchstiere	23
4.2. Instrumentierung und Versuchsablauf	23
4.3. Datenerfassung und Auswertung der Daten	29
4.3.1. Datenerfassung	29
4.3.2. Verarbeitung und Auswertung der Daten	29
4.4. Statistische Auswertung	32

5.	ERGEBNISSE	33
5.1.	Lineare Parameter der Herzfrequenzvariabilität	35
5.1.1.	Herzfrequenzniveau	35
5.1.2.	Standardabweichung der Normal-zu-Normal-Intervalle (SDNN)	36
5.1.3.	RMSSD (Root mean square of successive differences)	37
5.1.4.	Dreiecksinterpolation aus dem Histogramm der Normal-zu-Normal-Intervalle (TINN)	38
5.1.5.	Triangular-Index der Herzfrequenzvariabilität (HRVtri)	39
5.1.6.	Leistung in den Spektralbändern	40
5.1.7.	Abfall der Autokorrelationsfunktion bezogen auf den nächsten Herzschlag	44
5.1.8.	Abfall der Autokorrelationsfunktion bezogen auf den nächsten Atemzug	45
5.1.9.	Zusammenfassung der Beeinflussung linearer Parameter der Herzfrequenzvariabilität	46
5.2.	Parameter der Blutdruckfluktuationen	47
5.2.1.	Arterieller Mitteldruck	47
5.2.2.	Leistung der Blutdruckfluktuation in den Spektralbändern	47
5.2.3.	Abfall der Autokorrelationsfunktion (ACF) des arteriellen Blutdrucks bezogen auf den nächsten Herzschlag	51
5.2.4.	Abfall der Autokorrelationsfunktion (ACF) des arteriellen Blutdrucks bezogen auf den nächsten Atemzug	52
5.3.	Komplexe Parameter von Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen	53
5.3.1.	Abfall der Autotransinformationsfunktion (AMIF) der Herzschlagfolge bezogen auf den nächsten Herzschlag	53
5.3.2.	Abfall der Autotransinformationsfunktion (AMIF) der Herzschlagfolge bezogen auf den nächsten Atemzug	53
5.3.3.	Abfall der Autotransinformationsfunktion (AMIF) der Blutdruckfluktuationen bezogen auf den nächsten Herzschlag	54

5.3.4.	Abfall der Autotransinformationsfunktion der Blutdruckfluktuationen bezogen auf den nächsten Atemzug	55
5.4.	Lineare und komplexe Kopplungsparameter	56
5.4.1.	Maximale Kreuzkorrelation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Atembewegungen	56
5.4.2.	Maximale Kreuzkorrelation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Blutdruckfluktuationen	57
5.4.3.	Maximale Kreuzkorrelation zwischen Blutdruckfluktuationen und Atembewegungen	58
5.4.4.	Maximale Kreuztransinformation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Atembewegungen	59
5.4.5.	Maximale Kreuztransinformation zwischen Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen	60
5.4.6.	Maximale Kreuztransinformation zwischen Atembewegungen und Blutdruckfluktuationen	61
6.	DISKUSSION	63
6.1.	Methodendiskussion	63
6.2.	Ergebnisdiskussion	68
6.2.1.	Parameter der Herzfrequenzvariabilität	68
6.2.2.	Einfluss des $TNF\alpha$ auf die Blutdruckfluktuationen	73
6.2.3.	Kopplungsparameter	76
7.	SCHLUSSFOLGERUNG	80
8.	LITERATURVERZEICHNIS	81

Abkürzungsverzeichnis

A.....	Arteria
Ach.....	Acetylcholin
ACF.....	Autokorrelationsfunktion
AIF.....	autonomic information flow
AMIF.....	auto mutual information function – Autotransinformationsfunktion
AMPA.....	α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionsäure
ANP.....	Atriales natriuretisches Peptid
ANS.....	Autonomes Nervensystem
AV-Knoten.....	Atrioventrikularknoten
BDF.....	Blutdruckfluktuationen
BGA.....	Blutgasanalyse
CMIF.....	cross mutual information function - Kreuztransinformationsfunktion
CD.....	Correlation dimension – Korrelationsdimension
CD.....	Cluster of differentiation
CRP.....	C-reaktives Protein
DAMPs.....	Damage associated molecular patterns - Schadenassoziiertes molekulares Muster
DNA.....	Desoxyribonukleinsäure
EKG.....	Elektrokardiogramm
eNOS.....	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
FFT.....	Fast Fourier Transformation
FiO ₂	Inspiratorische Sauerstofffraktion
FIR-Filter.....	finite impulse response filter – Filter mit endlicher Impulsantwort
GABA.....	γ -Aminobuttersäure
GM-CSF.....	Granulocyte macrophage colony-stimulating factor
GFR.....	Glomeruläre Filtrationsrate
HCl.....	Salzsäure
HF-Band.....	Hochfrequenzband
HFV.....	Herzfrequenzvariabilität
HMBG-1-Protein.....	High mobility group box 1 Protein
HRV-Tri.....	Triangularindex der Herzfrequenzvariabilität
HSP.....	Heat Shock Protein

IL	Interleukin
iNOS.....	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
i.m.	intramuskulär
i.p.	intraperitoneal
i.v.....	intravenös
KAN.....	Kardiale autonome Neuropathie
kD.....	Kilodalton
g	Gramm
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LBP	LPS-Bindungsprotein
LF-Band	Niedrigfrequenzband
LPS	Lipopolysaccharid
MIF	mutual information function – Transinformationsfunktion
mg	Milligramm
µg	Mikrogramm
ml	Milliliter
mmHg.....	Millimeter Quecksilbersäule
MODS	multi organ dysfunction syndrome – Multiorganversagen
MSE	multiscale entropy
N.....	Nervus
Ncl.	Nucleus
NMDA.....	N-Methyl-D-Aspartat
NF-κB	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' aktivierter B-Zellen
ng	Nanogramm
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NN	Normal-zu-Normal Intervall
NO	Stickstoffmonoxid
PAMPs	Pathogen-associated molecular patterns - pathogen-assoziierte molekulare Muster
R.....	Ramus
Rac1	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1
RMSSD	Root Mean Square of Successive Differences - Quadratwurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Differenzen sukzessiver RR-Intervalle

RR-Intervall	Intervall zwischen zwei R-Zacken
RSA.....	Respiratorische Sinusarrhythmie
RVLM	Rostrale ventrolaterale Medulla oblongata
SDNN	Standard deviation of successive heart beats - Standardabweichung der Abstände aufeinanderfolgender Herzschläge
SIRS.....	Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom
TINN.....	Triangular Interpolation of NN
TLR	Toll-like-receptor
TNF α	Tumor-Nekrosefaktor α
ULF-Band.....	ultra low frequency band
V.....	Vena
VLF-Band	very low frequency band - sehr niedriges Frequenzband
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Zusammenfassung

Lineare und nichtlineare Parameter von Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen sowie deren Kopplung mit der Atmung sind empfindliche Indikatoren physiologischer Regulationsmechanismen, die durch das autonome Nervensystem sowie lokale Interaktionen bedingt sind und in komplexer Weise interagieren. Damit kann auch das Ausmaß von Störungen dieser komplexen Mechanismen pauschal quantifiziert werden. Derartige pathologische Veränderungen wurden bislang bei einer Reihe schwerer Erkrankungen nachgewiesen, zum Teil werden sie bereits als Stratifizierungs- und Prognosekriterien angewendet. Die charakteristischen Veränderungen der autonomen Koordination werden dabei offensichtlich auch durch humoralen Mediatoren systemischer Inflammationsreaktionen beeinflusst. Jedoch ist bislang noch weitgehend ungeklärt, auf welche Weise diese humoralen Mediatoren die autonome Koordination modifizieren.

Die vorliegende Studie soll deshalb die Wirkung des Entzündungsmediators $\text{TNF}\alpha$ auf spezifische Variabilitäts- und Kopplungsparameter kardiorespiratorischer Fluktuationen untersuchen. Dabei soll durch Ausschaltexperimente geklärt werden, welche Komponenten der autonomen Koordination durch diesen proinflammatorischen Mediator beeinflusst werden.

Dazu wurde bei weiblichen Lewis-Ratten nach vorheriger $\text{TNF}\alpha$ Gabe (2,5 – 3,3 $\mu\text{g/kg}$, i.p. 12 Stunden vor Beginn der ersten Datenaufzeichnung) Herzfrequenz, arterieller Blutdruck und Atembewegungen jeweils im Wachzustand, unter Narkose, nach Vagotomie, nach β - und α -adrenerger Blockade, während Muskelrelaxation und Beatmung sowie nach Thorakotomie aufgezeichnet. Es wurden Parameter der HFV und BDF im Zeit- und Frequenzbereich, Parameter der Transinformation sowie lineare und komplexe Kopplungsparameter zwischen Herzschlagfolge, arteriellem Blutdruck und der Atmung bestimmt und mit denen unbehandelter Tiere verglichen.

Bei wachen Tieren wurden keine deutlichen Hinweise des Einflusses von $\text{TNF}\alpha$ auf die untersuchten Parameter der autonomen Koordination gefunden. $\text{TNF}\alpha$ bewirkte jedoch im narkotisierten Zustand eine Reduktion des Herzfrequenzniveaus und führte zu verstärkter Ausprägung von linearer und nichtlinearer Herzfrequenzvariabilität (HFV) ($p < 0,05$). Gleichzeitig wurde eine

reduzierte Gesamtleistung der Blutdruckfluktuationen (BDF) und eine erhöhte BDF-Komplexität nachgewiesen ($p < 0,05$). Durch Vagotomie wurden diese Effekte aufgehoben, so dass offensichtlich der Erhalt des vagalen Signalweges essentiell für diesen $\text{TNF}\alpha$ -Effekt ist.

Interessanterweise traten bei Tieren mit $\text{TNF}\alpha$ -Vorbehandlung nach kompletter Ausschaltung autonomer Efferenzen erneut Veränderungen in Parametern der komplexen autonomen Koordination auf: Es fand sich eine reduzierte HFV-Kopplung mit BDF und Atembewegungen ($p < 0,05$). Somit bewirkt die $\text{TNF}\alpha$ -Vorbehandlung auch Veränderungen der kardialen Erregungsbildung im Sinusknoten, die lokale, wahrscheinlich mechanisch verursachte Interaktionen von Atembewegungen einschränkt. Darüber hinaus ist offensichtlich auch die Übertragung der Herzfrequenzschwankungen auf die Generierung von Blutdruckfluktuationen dabei eingeschränkt.

Es konnte damit erstmals nachgewiesen werden, dass der proinflammatorische Mediator $\text{TNF}\alpha$ länger andauernde Auswirkungen auf die kardiorespiratorische Koordination ausübt, ohne dass bei der Untersuchung klinische Merkmale des systemischen inflammatorischen Antwortsyndroms nachweisbar waren. Dabei wurden diese Effekte erst bei sukzessiver autonomer Denervierung offensichtlich. Es konnte damit auch gezeigt werden, dass kardiogene Auswirkungen von $\text{TNF}\alpha$ durch kardiovagale Einflüsse überdeckt werden. Nach kompletter autonomer Denervierung werden direkte Auswirkungen von $\text{TNF}\alpha$ auf die mechanische Beeinflussung der kardialen Erregungsbildung im Sinusknoten und die Übertragung der HFV auf die Generierung von Blutdruckfluktuationen demaskiert. Somit ist $\text{TNF}\alpha$ offensichtlich maßgeblich an der Entkopplung („uncoupling“) biologischer Oszillatoren beteiligt und wirkt schon destabilisierend auf die autonome Koordination, bevor erhebliche klinische Konsequenzen der proinflammatorischer Mediatorfreisetzung evident werden.

2. Einleitung

Herzfrequenz und arterieller Blutdruck zeigen in ihrem Zeitverlauf spontane Schwankungen, die als Herzfrequenzvariabilität (HFV) bzw. Blutdruckfluktuationen (BDF) bezeichnet werden. Diese physiologischen Kurzzeitschwankungen sind Ausdruck der Feinabstimmung von Herzfrequenz und Blutdruck und entstehen durch neurovegetative, humorale, hämodynamische und atemmechanische Faktoren sowie deren Wechselwirkungen (Montano et al. 2009, Paton et al. 2005). Kurzzeitschwankungen der Herzfrequenz in Abhängigkeit vom Atemrhythmus wurden bereits 1927 als physiologisch beschrieben (Wenckebach und Winterberg 1927). Wilhelmson beschrieb 1932 eine „Starre“ der Herzfrequenz bei physischer Belastung, bei Herz-Kreislauf-Erkrankungen und im höheren Alter (Wilhelmson 1932). Zur Ermittlung der Komponenten der Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen werden seit vielen Jahren sog. Variabilitätsparameter eingesetzt. Nachdem anfangs einfache Streuungsmaße wie die Standardabweichung ermittelt wurden, gelang in den 80er Jahren mittels der Leistungsspektralanalyse eine funktionelle Zuordnung der einzelnen Komponenten der HFV (Akselrod et al. 1981, Daniels et al. 1983, Pomeranz et al. 1985). In den letzten Jahren wurden zunehmend nicht-lineare bzw. komplexe Variabilitätsparameter eingeführt (Hoyer et al. 1996, Hoyer et al. 1998, Dabire et al. 1998), die den komplexen Charakter dieser kardiorespiratorischen Kurzzeitschwankungen berücksichtigen und damit eine differenziertere Beurteilung der HFV und BDF sowie deren Veränderung bei einer Reihe nicht-physiologischer Zustände und Erkrankungen erlauben.

Bei vielen Erkrankungen wurden Veränderungen der Variabilitätsparameter der kardiorespiratorischen Kurzzeitschwankungen festgestellt. Bei zahlreichen dieser Erkrankungen, die mit einer verstärkten systemischen Freisetzung von $\text{TNF}\alpha$ einhergehen, wurde ein direkter Zusammenhang zwischen $\text{TNF}\alpha$ -Spiegel und Veränderungen der HFV-Parameter ermittelt (Levine et al. 1990, Malave et al. 2003). Es ist daher von nachhaltigem Interesse, mit Hilfe linearer und komplexer Parameter genauere Kenntnisse über die Wechselwirkungen zwischen $\text{TNF}\alpha$ und dem autonomen Nervensystem (ANS) zu erlangen, die sich grundsätzlich in Veränderungen der HFV und BDF widerspiegeln.

2.1. Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen – physiologische Grundlagen

2.1.1. Regulation der Herzfrequenz

Niveau und Dynamik der Herzfrequenz werden vor allem durch das autonome Nervensystem reguliert. Parasympathische Efferenzen greifen dabei vorwiegend am Sinusknoten, aber auch am Atrioventrikularknoten (AV-Knoten) an, während die sympathischen Efferenzen neben den Sinus- und AV-Knoten auch den Herzmuskel selbst beeinflussen. Die parasympathischen Efferenzen haben ihren Ursprung im Ncl. ambiguus und im Ncl. dorsalis nervi vagi der Medulla oblongata. Sie erreichen das Herz als Rr. cardiaci des N. vagus.

Die parasympathische Wirkung wird durch den Neurotransmitter Acetylcholin (ACh) vermittelt und hat unter Ruhebedingungen einen größeren Einfluss auf die Herzfrequenz als der Sympathikus. Acetylcholin bewirkt über muskarinerge Rezeptoren eine Öffnung von Kaliumkanälen am Sinusknoten und vermittelt so eine Hyperpolarisation der Sinusknotenzellen. Hierdurch wird bei vagaler Aktivierung die spontane Depolarisation der Sinusknotenzellen verlangsamt und somit die Herzfrequenz reduziert. Zudem wird durch ACh die Überleitung am AV-Knoten verzögert (negativ dromotroper Effekt) (Trautwein und Kassebaum 1961). Im Sinusknoten wird ACh rasch durch die in hoher Konzentration vorliegende Acetylcholinesterase abgebaut. Daher sind die über den N. vagus vermittelten Effekte von kurzer Wirkungsdauer. So sind Änderungen der Herzfrequenz mit kurzer Zeitkonstante möglich.

Die präganglionären sympathischen Neurone liegen im Seitenhorn des oberen Thorakalmarkes. Von dort aus laufen sie nach Umschaltung auf die zugehörigen postganglionären Neurone in den Ganglien des Grenzstranges zusammen mit Gefäßen zum Herzen. Weitere Efferenzen präganglionärer sympathischer Neurone enden im Nebennierenmark. Sie bewirken die endokrine Freisetzung der Neurotransmitter Adrenalin und Noradrenalin. Die tonische Aktivität der präganglionären sympathischen Neurone wird vor allem durch Neurone der rostralen ventrolateralen Medulla oblongata (RVLM) vermittelt (Goldstein 2001, Trzebski und Baradziej 1992).

Die Effekte postganglionärer sympathischer Neurone am Zielorgan, so auch am Sinusknoten des Herzens, werden durch den Neurotransmitter Noradrenalin vermittelt. An den Zielzellen wird die adrenerge Wirkung über α - und β -adrenerge Rezeptoren vermittelt, die aufgrund unterschiedlicher Transduktionsmechanismen differente Wirkungen auf das Zielorgan ausüben und wegen unterschiedlicher Expression, Affinitäten und Wirkungsspektren nochmals in jeweils zwei Subtypen unterteilt werden. α_1 -Rezeptoren findet man an glattmuskulären Strukturen, ihre Aktivierung bewirkt eine Vasokonstriktion. α_2 -Rezeptoren befinden sich unter anderem präsynaptisch an sympathischen Ganglien. Dort bewirkt ihre Aktivierung über ein negatives Feedback eine Hemmung der Transmitterausschüttung. Die Aktivierung der im ZNS lokalisierten α_2 -Rezeptoren bewirkt eine Senkung des Blutdrucks und hat einen sedierenden Effekt. Über die vor allem am Herzen lokalisierten β_1 -Rezeptoren wird eine positiv inotrope, chronotrope und dromotrope Wirkung vermittelt. Über adrenerge β_2 -Rezeptoren an der glatten Gefäßmuskulatur wirkt vor allem Adrenalin vasodilatierend.

Vermehrte Aktivität einer Komponente des autonomen Nervensystems wird nicht nur durch Aktivierung der entsprechenden Neurone, sondern auch durch Hemmung der jeweils anderen Komponente umgesetzt (Esperer 1994).

2.1.2. Regulation des Blutdrucks

Während beim Menschen die Herzfrequenz und deren Variabilität in erster Linie vagal beeinflusst werden, unterliegen Regulation und Fluktuationen des arteriellen Blutdruckes sowohl sympathischen als auch parasympathischen Einflüssen. Zu letzteren zählt insbesondere die durch parasympathische Innervation der Gefäßwände bedingte ACh-abhängige Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) und die daraus resultierende Vasodilatation (Furchgott und Zawadzki 1980, Andriantsitohaina und Surprenant 1992). Die Wirkung des Sympathikus wird sowohl durch postganglionäre sympathische Fasern und deren Transmitter Noradrenalin direkt am Herzen und den Gefäßen als auch durch aus dem Nebennierenmark freigesetztes Adrenalin und Noradrenalin vermittelt. Die Transmitter wirken über die an den Gefäßen lokalisierten α_1 -Rezeptoren gefäßverengend, über kardiale β_1 -Rezeptoren positiv inotrop, sowie über die an den Gefäßen lokalisierten β_2 -Rezeptoren (z.B. in der quergestreiften Muskulatur)

vasodilatierend. Die Aktivierung des Sympathikus bewirkt also eine Steigerung des Blutdruckes und beeinflusst die anforderungsgerechte Durchblutung der Organe.

Wird über die in der Wand der großen cervicalen und thorakalen Arterien gelegenen Pressorezeptoren eine Blutdrucksteigerung registriert, so erfolgt über den Baroreflex eine Hemmung der Neurone in der RVLM, die den efferenten Sympathikotonus induzieren. Es resultiert ein Blutdruckabfall durch Herabsetzung des totalen peripheren Widerstandes sowie durch Erweiterung der Kapazitätsgefäße und daraus folgender Vorlastsenkung. Zusätzlich bewirkt die Hemmung sympathischer Efferenzen zum Herzen einen negativ inotropen Effekt (Richter und Spyer 1990). Jedoch bewirkt Blutdrucksenkung konsekutiv durch eine verminderte Aktivierung intramuraler Pressorezeptoren umgekehrt eine Hemmung parasympathischer Neurone mit reziproker sympathischer Aktivierung. Somit sind die BDF bei intaktem Baroreflex geringer ausgeprägt als bei unterbrochenem Reflexbogen (Guyton et al. 1969).

Ähnlich den arteriellen Pressorezeptoren im barorezeptorischen Regelkreis bewirken die in den Vorhöfen lokalisierten Dehnungsrezeptoren bei Aktivierung eine Steigerung der parasympathischen und Verminderung der sympathischen Aktivität. Bei vermehrter Aktivierung der Dehnungsrezeptoren Typ B durch Dehnung der Vorhöfe kommt es zudem zu einem erhöhten renalen Blutfluss mit gesteigerter Flüssigkeitsausscheidung (Karim et al. 1982). Zum anderen wird über die renale Durchblutung das Renin-Angiotension-Aldosteron-System und somit die längerfristige Volumenregulation beeinflusst.

Durch Dehnung der Vorhöfe wird von den Kardiomyozyten das atriale natriuretische Peptid (ANP) freigesetzt, das über verschiedene Mechanismen (Steigerung der GFR, Hemmung der Reninfreisetzung) letztlich das Blutvolumen und den Blutdruck reduziert (Potter et al. 2009).

2.1.3. Komponenten der Herzfrequenzvariabilität, Blutdruckfluktuationen sowie deren Kopplung

Aufgrund der vielfältigen gegenseitigen Beeinflussung der Regulationsmechanismen von Herzfrequenz und Blutdruck können auch HFV und BDF nicht losgelöst voneinander betrachtet werden. Herzfrequenzvariabilität und

Blutdruckfluktuationen sind Ausdruck kardiovaskulärer Regulationsmechanismen, auf die vor allem das ANS, humorale Faktoren und lokale Einwirkungen am Sinusknoten sowie an den Gefäßen Einfluss nehmen.

Da die Herzfrequenz vorwiegend vagal gesteuert wird, ist auch die Herzfrequenzvariabilität, insbesondere die kurzfristige, über Veränderungen der vagalen Aktivität zu erklären. Aktuelle Vorstellungen gehen davon aus, dass über Verbindungen der präganglionären vagalen Neurone im Ncl. ambiguus zu sympathoexzitatorischen Neuronen in der RVLM und benachbart gelegene, den Atemrhythmus generierende Neurone des Prä-Bötzinger-Komplexes die respiratorische Sinusarrhythmie (RSA) vermittelt wird (Richter und Spyer 1990).

Über den Barorezeptorreflex werden die Fluktuationen des Blutdrucks zu synchronisierenden Effekten in der HFV. Änderungen des arteriellen Blutdruckes führen über diesen Hirnstammreflex sowohl zu einer Anpassung der Herzfrequenz über vagale Efferenzen als auch zur Veränderung des peripheren Gefäßwiderstandes über sympathische Efferenzen (deBoer et al. 1987). So bewirken z.B. die 10-Sekunden-Blutdruckwellen (s.u.) über den Baroreflex eine Stabilisierung der 10-Sekunden-Rhythmen der Herzfrequenz (Sica et al. 2001).

Die HFV wird darüber hinaus sowohl durch nervöse als auch hämodynamische Rückkopplungen moduliert (Berntson et al. 1993, Zwiener et al. 2001). Über den Hering-Breuer-Reflex (Lungendehnungsreflex) werden Informationen über die Lungendehnung an das Atemzentrum übermittelt. Dadurch wird nicht nur die Inspiration beendet, sondern über Verbindungen zum Ncl. ambiguus auch die vagale Aktivität herabgesetzt und die Herzfrequenz in Niveau und Variabilität beeinflusst.

Weitere modulierende Komponenten der HFV entstehen im Sinusknoten des Herzens selbst. Der Sinusknoten besteht aus spezialisierten Zellen, die hauptsächlich dadurch gekennzeichnet sind, dass sie verglichen mit anderen kardialen Zellen am schnellsten spontan depolarisieren und damit als Schrittmacher der kardialen Erregungsbildung fungieren. Die Sinusknotenzellen sind über gap junctions verbunden und bilden so ein funktionelles Synzytium, über das eine synchrone Depolarisation aller Zellen des Sinusknotens möglich ist (Esperer 1994). Die durch die Spontandepolarisation der Sinusknotenzellen entstandene elektrische Erregung wird dann auf die Vorhöfe weitergeleitet. Auch die Zellen des AV-Knotens und des Myokards sind grundsätzlich zur spontanen

Depolarisation in der Lage. Da diese Strukturen jedoch langsamer als der Sinusknoten depolarisieren, sind sie den Sinusknotenzellen als potentielle Schrittmacherzellen nachgeordnet.

Die Erregungsbildung der Zellen des Sinusknotens kann neben den oben beschriebenen Modifikationen durch das autonome Nervensystem auch durch mechanische Einflüsse verändert werden. Perlini und Mitarbeiter wiesen nach, dass die atemsynchrone Fluktuation der HFV, die respiratorische Sinusarrhythmie (RSA), nach vagaler Denervierung und Sympathikusblockade bei deutlicher Amplitudenverminderung erhalten bleibt (Perlini et al. 1995). Dies wird offensichtlich durch synchrone Dehnung/Entspannung der erregungsbildenden Sinusknotenzellen infolge atmungsbedingter Fluktuationen des rechtsatrialen Druckes verursacht. Slovut und Mitarbeiter beschrieben zudem am isolierten Herzen eine Steigerung der Herzfrequenz in Abhängigkeit vom Perfusionsdruck in den Koronararterien und vermuten eine direkte mechanische Beeinflussung der Sinusknotenzellen (Slovut et al. 1999). Das Depolarisationsverhalten der Sinusknotenzellen kann also durch mechanische Alterationen der Umgebung verändert werden. Auch über einen cholinergen Mechanismus wird eine Restvariabilität am isolierten Herzen vermittelt (Mukhina et al. 2000), da diese durch Atropin blockiert werden kann. Letztlich wird bei Patienten nach Herztransplantation eine geringe HFV gefunden, die über lokale Mechanismen vermittelt sein muss (Guzzetti et al. 1996).

Langwelligere Rhythmen der Herzfrequenz entstehen durch den Einfluss des Renin-Angiotensin-Systems sowie im Rahmen thermoregulatorischer Prozesse (Fleisher et al. 1996, Akselrod et al. 1981, Berntson et al. 1997).

Bei der Kurzzeitregulation des arteriellen Blutdrucks ist der Einfluss des Sympathikus stärker ausgeprägt als der des Parasympathikus. Über den Baroreflex-Regelkreis erfolgt die Anpassung des Blutdruckes über sympathische Efferenzen zum Herzen mit Wirkung auf Kontraktilität und Frequenz sowie zur glatten Gefäßmuskulatur mit entsprechender Anpassung des peripheren Widerstandes. Dabei dämpft der intakte Baroreflex offensichtlich die Blutdruckfluktuationen, da diese nach der Unterbrechung des Reflexes zunehmen (Guyton et al. 1969). Darüber hinaus wird auch eine zentrale „Oszillation“ sowohl des vagalen als auch des sympathischen Tonus diskutiert, die sich in den Blutdruckfluktuationen widerspiegelt (Malpas 1998, Grasso et al. 1995, Preiss und

Polosa 1974). Schließlich wird der arterielle Blutdruck durch lokale mechanische (z.B. Atembewegungen) und humorale Faktoren beeinflusst. So wiesen Nafz und Mitarbeiter eine „glättende“ Wirkung auf die Blutdruckfluktuationen durch Stickstoffmonoxid (NO) nach (Nafz et al. 1997).

Die 10-Sekunden-Blutdruckwellen (Mayer-Wellen oder Traube-Hering-Wellen) werden durch Eigenrhythmik der Gefäßmuskulatur und wahrscheinlich auch der kreislaufsteuernden Hirnstammneurone sowie durch Resonanzeffekte im Barorezeptor-Regelkreis verursacht (Richter und Spyer 1990). Weitere Ursachen dieser Kurzzeitvariabilität sind respiratorisch vermittelte Fluktuationen des Blutdruckes. Diese entstehen einerseits durch Interaktionen der Hirnstammneurone, welche Herzaktionen und Atmung steuern (Langhorst et al. 1983), werden aber auch direkt mechanisch, z.B. durch thorakale Druckänderungen bedingt. Man bezeichnet diese Veränderungen des Blutdrucks als respiratorische Blutdruckwellen.

Der arterielle Blutdruck wird natürlich auch von der Kontraktilität des Herzens beeinflusst. Diese ist wiederum abhängig von der Aktivität sympathischer efferenter Neurone, die positiv inotrop auf den Herzmuskel einwirken können. Intrathorakale Druckänderungen, die durch die Atmung verursacht werden, beeinflussen den venösen Rückstrom zum Herzen. Auf diese Weise wird die kardiale Vorlast und somit über den Frank-Starling-Mechanismus ebenfalls die kardiale Kontraktilität und der Blutdruck modifiziert. Langwelligere Blutdruckfluktuationen werden durch thermoregulatorische Einflüsse, Veränderungen im Renin-Angiotensin-System sowie durch weitere zirkadiane Rhythmen verursacht (Akselrod et al. 1981, Baltatu et al. 2001, Akselrod et al. 1985).

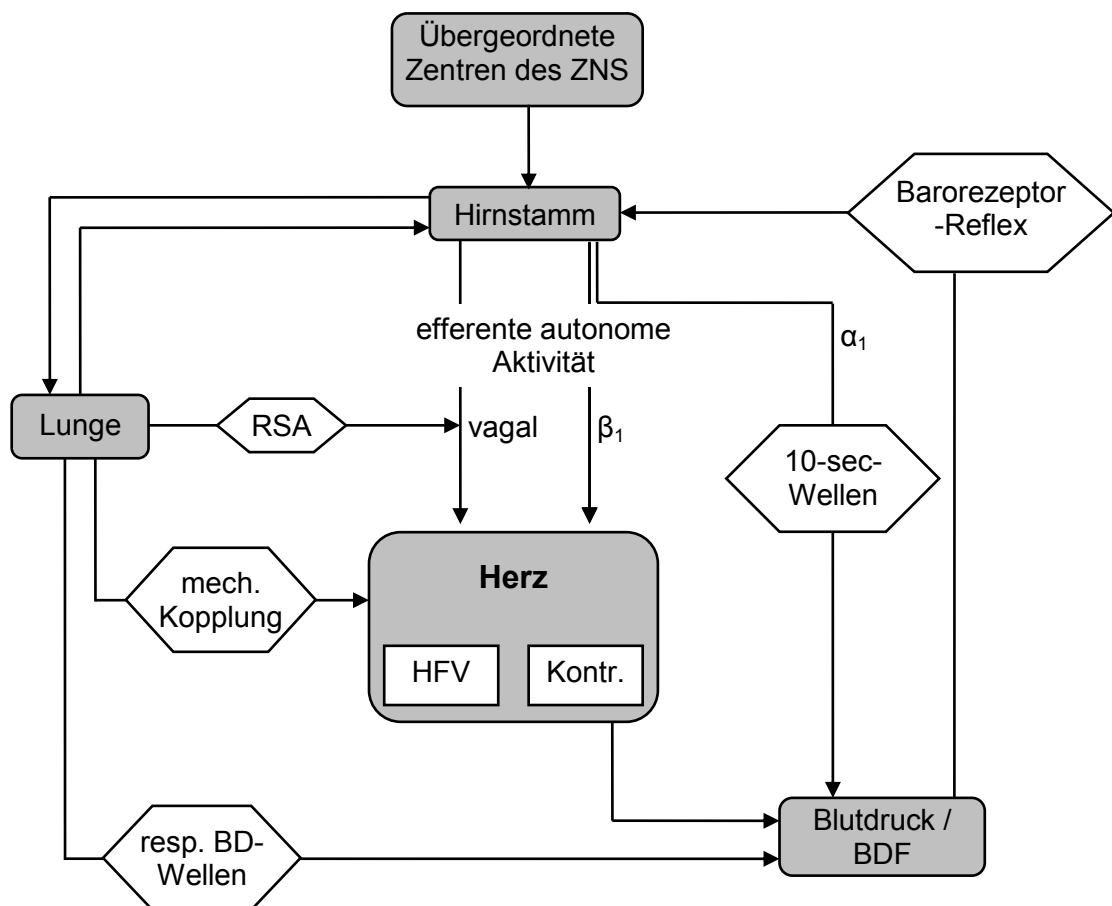


Abbildung 1 Vereinfachte schematische Darstellung der Regulation und Beeinflussung der HFV und BDF. Physiologische Strukturen sind als graue Kästen dargestellt. Die Pfeile symbolisieren physiologische Einflüsse zwischen diesen Strukturen. Physiologische Kopplungsmechanismen und -phänomene sind sechseckig abgebildet. Abkürzungen: RSA = respiratorische Sinusarrhythmie, BDF = Blutdruckfluktuationen, resp. BD-Wellen = respiratorische Blutdruckwellen, HFV = Herzfrequenzvariabilität, Kontr. = Kontraktilität, β_1 = sympathische Efferenzen, die über β_1 -Rezeptoren wirken, α_1 = sympathische Efferenzen, die über α_1 -Rezeptoren wirken, mech. Kopplung = mechanische Kopplung.

Die Kopplung zwischen Herzfrequenzvariabilität, Blutdruckfluktuationen und der Atmung, die in Abbildung 1 schematisch dargestellt ist, wird über verschiedene zentralnervöse und periphere Mechanismen hergestellt. Daran beteiligt sind die schon erwähnten Interaktionen zwischen den den Atemrhythmus generierende Neuronen und den präganglionären parasympathischen Neuronen im Hirnstamm sowie der Baroreflex-Regelkreis. Darüber hinaus bewirken die respiratorisch bedingten Druckänderungen im Thorax direkt Veränderungen des venösen Rückstroms zum Herzen. Dies führt zu Veränderungen der Kontraktilität und der Auswurfleistung des Herzens. Die vom Herzen ausgeworfene Blutmenge und der

Druck, mit dem dies geschieht, bestimmen entscheidend den arteriellen Blutdruck. Bei großer Strömungsgeschwindigkeit des Blutes und somit großen Scherkräften an der Gefäßwand wird eine Freisetzung von NO aus dem Endothel induziert, wodurch lokale Blutdruckspitzen abgepuffert werden können. Über den Baroreflex beeinflusst das Niveau des Blutdrucks die efferente Aktivität von Sympathikus und Parasympathikus und damit das Herzfrequenzniveau. Der Hering-Breuer-Reflex bewirkt bei Lungendehnung während der Inspiration zum einen eine Hemmung atemaktiver Neurone, so dass die Inspirationsphase beendet wird. Über die Verbindung der atemaktiven Neurone zum Ncl. ambiguus wird aber auch die vagale Aktivität vermindert und so die Herzfrequenz beschleunigt. Es resultiert ein Beitrag zur respiratorischen Sinusarrhythmie, die Ludwig 1847 erstmals erwähnte und die 1927 von Wenckebach und Winterberg ausführlich beschrieben wurde (Wenckebach und Winterberg 1927, Ludwig 1847). Ein weiterer Kopplungsmechanismus zwischen Atmung und Herz-Kreislaufsystem ergibt sich aus der Detektion der Kohlenstoffdioxid- und Sauerstoffpartialdrücke durch Chemorezeptoren im Carotissinus, welche Einfluss auf die Aktivität des ANS nehmen. Wegen ihres eher tonischen bzw. längerfristigen Effektes soll dies hier jedoch nicht weiter erörtert werden.

2.2. Parameter der Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen

2.2.1. Lineare Parameter

Die Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology veröffentlichte 1996 Standards zur Erfassung und klinischen Anwendung der Herzfrequenzvariabilität. Diesen Standards liegen vor allem lineare Parameter der Herzfrequenzvariabilität zugrunde. In analoger Weise werden diese Parameter auch für die Quantifizierung von BDF und Atembewegungen herangezogen.

Lineare Parameter werden in Zeit- und Frequenzparameter differenziert. Zu den zeitbezogenen statistischen Größen zählen unter anderem die Standardabweichung der Abstände aufeinander folgender Herzschläge (in ms) (Standard deviation of successive heart beats - SDNN; NN: normal to normal;

Abstand zweier Herzschläge), die Quadratwurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Differenzen sukzessiver RR-Intervalle (in ms) (Root Mean Square of Successive Differences, RMSSD), und als geometrische Größen die Länge der Basis des minimalen quadratischen Unterschiedes der triangulären Interpolation für den höchsten Wert des Histogramms aller NN-Intervalle (Triangular Interpolation of NN - TINN) sowie das Integral der Dichteverteilung (Anzahl aller NN-Intervalle dividiert durch das Maximum (Höhe) der Dichteverteilung; HRV-Triangular-Index - HRVtri). Diese Parameter erlauben eine Aussage über die Gesamtvariabilität (z.B. SDNN) und auch über den vor allem vagal vermittelten höherfrequenten Anteil der Variabilität (z.B. RMSSD).

Frequenzparameter werden vorrangig mit Hilfe der Leistungsspektralanalyse ermittelt. Durch die Ermittlung der Leistung in einzelnen Frequenzbändern ergibt sich eine physiologisch orientierte Aussage über die Komponenten der HFV. Von Akselrod und Mitarbeitern wurde gezeigt, dass sich bestimmte Anteile der HFV in spezifischen Frequenzbändern widerspiegeln und somit die Leistungs-Peaks in den Frequenzbändern die Aktivitäten der ANS-Anteile zuzuordnen sind (Akselrod et al. 1981, Pomeranz et al. 1985). Die Aktivität des Parasympathikus spiegelt sich im HF-Band wider (Frequenzband mit höheren Frequenzen, high frequency band: 0,15 - 0,4 Hz beim Menschen). Demgegenüber werden im LF-Band (Frequenzband mit niedrigen Frequenzen, low frequency band: 0,05 – 0,15 Hz beim Menschen) sowohl vagale als auch sympathisch vermittelte Anteile der HFV repräsentiert. In den noch langwelligeren Frequenzbereichen, die auch in VLF (very low frequency band) und ULF-Band (ultra low frequency band) unterteilt werden, finden sich Einflüsse des Renin-Angiotensin-Systems, der Thermoregulation und circadianer Rhythmen auf die Herzfrequenzregulation sowie analoge andere autonome Fluktuationen (Akselrod et al. 1981, Bonaduce et al. 1994, Kitney et al. 1980).

2.2.2. Nichtlinearität und nichtlineare Parameter

Die Dynamik der kardiorespiratorischen Fluktuationen ist durch ihren komplexen Charakter gekennzeichnet, d.h. wesentliche zeitabhängige Eigenschaften dieser

biologischen Abläufe können nur unzureichend durch lineare Signalanalyseverfahren erfasst werden. Die als „lineare“ HFV-Maße bekannt gewordenen Indizes quantifizieren die Streubreite der NN-Intervalle im Zeitbereich und die Amplituden der verschiedenen Rhythmen im Frequenzbereich. In den letzten Jahren wurden zunehmend auch „nicht-lineare“ Verfahren in die Herzfrequenzvariabilitätsanalyse und die Analyse der Kopplung kardiorespiratorischer Fluktuationen eingeführt, da diese besser geeignet sind, die komplexen biologischen Systeme zu beschreiben. Diese nichtlinearen HFV-Maße sind im wesentlichen Komplexitätsmaße, die zusätzlich die komplizierten Abhängigkeiten zwischen den verschiedenen autonomen bzw. kardiovaskulären Regelsystemen quantifizieren (Hoyer 2009).

Diese Verfahren berücksichtigen die komplexe Struktur biologischer Systeme, die mit linearen Parametern allein nicht ausreichend erfasst werden kann. In linearen Systemen erfolgt die Antwort auf einen Reiz entsprechend einer linearen Funktion. Mit einer solchen linearen Funktion können biologische Systeme jedoch nicht ausreichend beschrieben werden. Aufgrund der zahlreichen einander beeinflussenden Regelkreise, die zum Teil selbst keine lineare Charakteristik in ihrem gesamten Arbeitsbereich aufweisen, sind biologische Systeme insgesamt nichtlinear. Die Reizantwort in nichtlinearen Systemen ist nicht regelhaft proportional zum Reiz, wie dies in linearen Systemen der Fall ist. Weiterhin besitzt das Superpositionsprinzip keine Gültigkeit. Aber nicht nur in Bezug auf das Verhalten von Reiz und zugehöriger Antwort sind biologische Systeme nichtlinear (Amplituden-Nichtlinearität), auch im Zeitverlauf einer betrachteten Größe zeigen sie diese Eigenschaft.

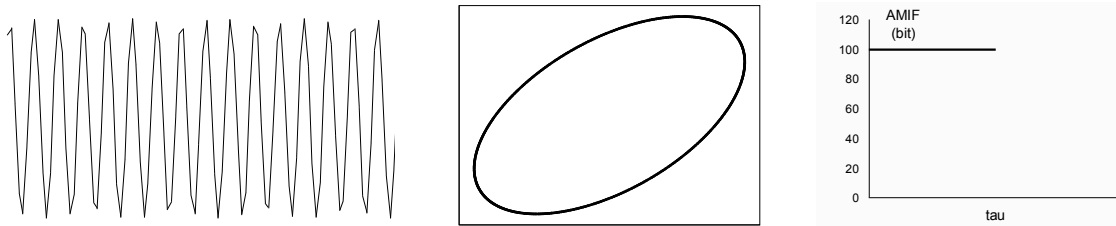
Zur quantitativen Erfassung dieser Eigenschaften werden Verfahren aus dem Bereich der nichtlinearen Dynamik beziehungsweise des deterministischen Chaos eingesetzt. Im Gegensatz zu den linearen Verfahren, bei denen die Analyse im Zeit- und Frequenzbereich erfolgt, basieren viele Verfahren des deterministischen Chaos auf multidimensionalen Phasenraum-Darstellungen, mit deren Hilfe die Strukturen von komplexen Systemen aufgezeigt werden können, die im Zeitbeziehungsweise Frequenzbereich nicht sichtbar werden. Inzwischen gibt es weithin etablierte Verfahren zur speziellen und pauschalen Erfassung nichtlinearer Eigenschaften einer Zeitreihe. So basieren die Korrelationsdimension (CD) und die Approximierte Entropie (Pincus 1991) auf speziellen Entropieschätzverfahren,

währenddessen die Bestimmungen der Komplexitäts-Indizes der „symbolischen Dynamik“ auf der Transformation der NN-Intervallfolge in einfache Symbole und deren statistischer Vorhersagbarkeit beruhen (Voss et al. 2009). Funktionen der Komplexität über verschiedene Zeitskalen, wie „multiscale entropy“ (MSE) (Costa et al. 2002) und „autonomic information flow“ (AIF) ermöglichen die noch spezifischere Erfassung der komplexen autonomen Funktion und deren pathologischer Veränderungen hinsichtlich der Zeitskalen bestimmter Rhythmen und damit der zugrunde liegenden physiologischen Mechanismen (Hoyer et al. 2005).

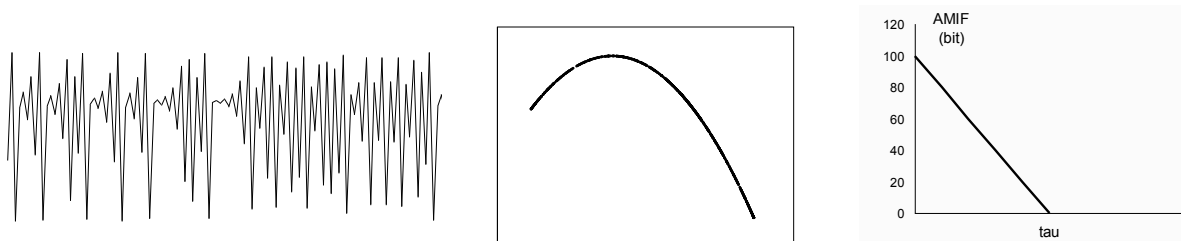
In der vorliegenden Untersuchung wurde die Bestimmung der Transinformation (engl. Mutual information function, MIF) verwendet. Mit diesem Verfahren ist es möglich, eine Aussage über den globalen Informationsfluss in einem System zu treffen. Ausgehend von einer bestimmten Anzahl Punkte einer Zeitreihe (Einbettungsdimension) wird die Vorhersagbarkeit der Zeitreihe über einen Zeitraum τ (tau) ermittelt. Danach ist der Wert der Auto Mutual Information Function (AMIF) zum Zeitpunkt $\tau = 0$ maximal. Ein großer Abfall der AMIF bedeutet einen hohen Informationsverlust und somit eine geringe Vorhersagbarkeit, also eine hohe Komplexität einer Zeitreihe. Umgekehrt zeigt ein geringer AMIF-Abfall einen geringen Informationsverlust an, so dass eine größere Vorhersagbarkeit und geringe Komplexität der Zeitreihe vorliegt.

Zur Illustration des globalen Informationsflusses von Zeitreihen sollen im Folgenden charakteristische Beispiele gegeben werden (Abbildung 2). Dargestellt ist jeweils die betrachtete Zeitreihe, der zugehörige Poincare-Plot (Darstellung, bei der die Zeitreihe auf sich selbst abgebildet wird, hiermit kann die Selbstähnlichkeit einer Zeitreihe dargestellt werden) sowie ein Schema des Verlaufs der AMIF. Abbildung 2A zeigt eine Sinusschwingung als Beispiel einer regelmäßigen Zeitreihe. Die Zeitreihe ist komplett vorhersagbar, die AMIF ist für jedes τ gleich ihrem Maximalwert. In Abbildung 2B ist eine Zeitreihe mit deterministisch-chaotischen Charakteristika dargestellt. Der Wert der AMIF fällt mit τ ab. Die Zeitreihe ist über einen bestimmten Zeitraum vorhersagbar. Abbildung 2C zeigt eine Reihe von Zufallszahlen als Beispiel eines unkorrelierten Rauschens. Die AMIF fällt sehr steil ab, der Informationsverlust ist sehr groß für $\tau \neq 0$, die Zeitreihe ist praktisch nicht vorhersagbar.

A) $f(x) = \sin x$ als Beispiel eines regelmäßigen Datensatzes



B) $f(x_n) = a * x_{n-1} * (1 - x_{n-1})$ für $a=3,7$, $x_{n1}=0,5$ als Beispiel eines Datensatzes mit chaotisch-deterministischen Eigenschaften:



C) Reihe von Zufallszahlen („unkorreliertes Rauschen“)

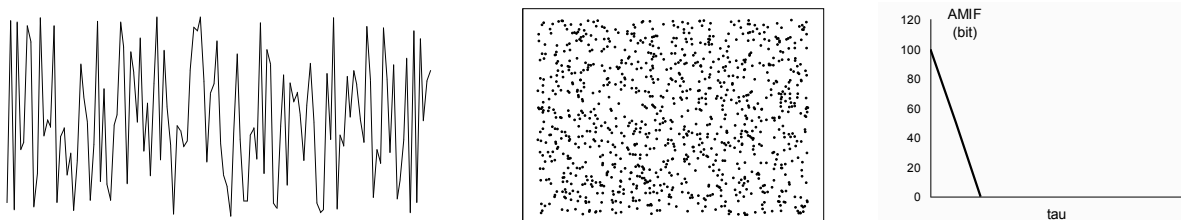


Abbildung 2 A-C: Beispiele für den Verlauf der Auto Mutual Information Function (AMIF) in Abhängigkeit von Eigenschaften der untersuchten Zeitreihe. Dargestellt ist jeweils die betrachtete Zeitreihe, der zugehörige Poincare-Plot sowie ein Schema des Verlaufs der AMIF.

MIF-Parameter eignen sich auch zur Beschreibung der Informationsübertragung zwischen zwei Zeitreihen. Zur Analyse der Kopplungen zwischen Herzfrequenz, Blutdruck und Atmung wurde daher die Cross Mutual Information Function (CMIF) gewählt. Im Gegensatz zu linearen Kopplungsparametern (Kohärenz, Kreuzkorrelation) werden mit der CMIF sowohl lineare als auch nichtlineare Anteile der Kopplung erfasst.

2.3. Veränderungen der Variabilitätsparameter bei ausgewählten Krankheitsbildern

Schon seit mehreren Jahren ist man bestrebt, mittels Parametern der Herzfrequenzvariabilität als nicht-invasiver Methode Aussagen über den Schweregrad lebensbedrohlicher Erkrankungen zu treffen und auch ihre Prognose zu beurteilen. Dabei konnte gezeigt werden, dass durch Herzfrequenzvariabilitätsparameter krankhafte Zustände und deren zeitlicher Verlauf früher ermittelt werden können, als es mit bisher etablierten Methoden (z.B. Scores oder Laborparameter) möglich ist. Die Veränderungen der HFV gehen klinisch fassbaren Veränderungen oft voran (Guzzetti et al. 2000, Kautzner und Camm 1997, Barnaby et al. 2002).

Bereits seit mehr als 20 Jahren werden lineare Parameter, wie die Standardabweichung der NN-Intervalle (SDNN) und Kenngrößen der Leistungsspektralanalyse, zu diesem Zweck genutzt (Wolf et al. 1978, Malliani et al. 1994). Auf diese Weise konnte ermittelt werden, dass Patienten, die unter chronischer Herzinsuffizienz leiden, eine höhere Mortalität haben, wenn bei ihnen eine geringere Herzfrequenzvariabilität, d.h. eine verminderte SDNN und eine eingeschränkte spektrale Leistung, nachgewiesen wurden (Übersichtsarbeit von (Guzzetti et al. 2001). Malpas und Maling wiesen bei Diabetes-mellitus-Patienten eine reduzierte Herzfrequenzvariabilität nach (Malpas und Maling 1990). Bei diesen Patienten deutet eine eingeschränkte HFV auf das Vorhandensein einer kardialen autonomen Neuropathie (KAN) hin. Dabei waren die aus 24h-EKG-Aufzeichnungen kalkulierten HFV-Parameter ein deutlich sensitiverer Hinweis auf das Vorliegen einer KAN als der bisher angewandte Ewing-Test (Ewing et al. 1985). Bei Patienten, die an einem Guillain-Barré-Syndrom erkrankt sind, wird die HFV-Bestimmung zur Früherkennung einer autonomen Dysregulation eingesetzt. Zahlreiche Autoren beschrieben eine verminderte HFV als Risikofaktor für kardiale Arrhythmien und den plötzlichen Herztod nach Myokardinfarkt (Lanza et al. 1999, Malliani et al. 1994, Voss et al. 1998) bzw. bei instabiler Angina pectoris (Lanza et al. 1997). Außerdem konnte gezeigt werden, dass Parameter der Herzfrequenzvariabilität dazu geeignet sind, Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz von Gesunden zu unterscheiden (Heitmann et al. 2010). Die Arbeitsgruppe um von Känel konnte zeigen, dass bei koronarer Herzkrankheit die

HFV reduziert ist und zudem negativ mit dem Blutspiegel des proinflammatorischen Zytokins IL-6 sowie mit anderen paraklinischen Entzündungsmarkern (CRP, Fibrinogen) korreliert (von Kanel et al. 2010).

Auch im Rahmen der Sepsis bzw. des SIRS wurden charakteristische Veränderungen der HFV und BDF beschrieben (Annane et al. 1999, Garrard et al. 1993, Piepoli et al. 1995). Dabei wurden bisher vor allem lineare Parameter der HFV und BDF bestimmt. Auch hier wurde jeweils eine Reduktion der HFV bei Sepsis beschrieben. Zudem zeigte sich eine Störung der sympatho-vagalen Balance mit Verringerung der sympathisch vermittelten Anteile der HFV. Godin und Mitarbeiter untersuchten auch die approximierte Entropie als komplexen Parameter (Godin et al. 1996). Sie fanden, dass dieser Parameter sich im Verlauf der experimentellen Endotoxinämie beim Menschen früher verändert als lineare Parameter. Darüber hinaus wird eine verminderte Kopplung zwischen den Organsystemen als pathogenetischer Faktor bei der Entstehung des Multiorganversagens vermutet. Schmidt und Mitarbeiter konnten zeigen, dass die autonome Dysfunktion, die sie mithilfe der HFV-Parameter quantifizierten, ein prognostisch ungünstiger Faktor für den Verlauf des MODS (Multiorganversagen) ist (Schmidt et al. 2005).

Marsland und Mitarbeiter stellten dar, dass die stimulierte Freisetzung proinflammatorischer Zytokine zu einer verminderten HFV beim Menschen führt (Marsland et al. 2007). Es ist daher anzunehmen, dass bei vielen Erkrankungen, die mit einer (z.T. dauerhaften) Erhöhung der Serumspiegel proinflammatorischer Zytokine einhergehen (z.B. rheumatoide Arthritis, Morbus Crohn, Koronare Herzkrankheit, Alzheimer-Erkrankung) auch die Herzfrequenzvariabilität verändert ist und möglicherweise als diagnostischer und / oder Verlaufsparemeter herangezogen werden kann.

2.4. Tumor-Nekrose-Faktor α

Das Zytokin Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF α) ist ein Trimer aus 3 identischen Polypeptidketten mit einer Molmasse von 17kD. Die Namensgebung resultiert aus der u.a. von Carswell und Mitarbeitern beschriebenen nekrotisierenden Wirkung auf Tumorzellen (Carswell et al. 1975). Im Verlauf weiterer Untersuchungen fand man, dass ein bis dahin als Kachektin bezeichnetes Protein, das eine katabole

Stoffwechsellaage und Kachexie verursacht, mit $\text{TNF}\alpha$ identisch ist (Beutler et al. 1985).

$\text{TNF}\alpha$ wird hauptsächlich von aktivierten Makrophagen, aber auch von vielen anderen Zellen, darunter Monozyten, neutrophilen Granulozyten, NK-Zellen, T-Lymphozyten, Fibroblasten, Mikrogliazellen und glatten Muskelzellen nach Stimulation durch proinflammatorische Mediatoren produziert. Die Freisetzung aus diesen Zellen wird durch zahlreiche Stoffe, z.B. Endotoxin, IL-1, IL-6, GM-CSF (sog. PAMPs - Pathogen-associated molecular patterns, pathogen-assoziierte molekulare Muster) induziert.

Als Endotoxin bezeichnet man Lipopolysaccharide (LPS) aus der Zellwand gramnegativer Bakterien. Gelangt LPS in den Organismus, wird es sofort an das LPS-Bindungsprotein (LBP) gebunden und zu CD-14 Rezeptoren auf immunkompetenten Zellen oder löslichen CD-14 Rezeptoren transferiert. CD-14 bildet zusammen mit dem Toll-like-Rezeptor 4 (TLR-4) einen Rezeptorkomplex, dessen Aktivierung über eine intrazelluläre Signalkaskade schließlich zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B führt. Dieser wird in den Zellkern transloziert und reguliert dort die Expression der Gene proinflammatorischer Zytokine (u.a. $\text{TNF}\alpha$, IL-1).

Aber auch die im Rahmen nicht-infektiöser Entzündungsreaktionen freigesetzten sog. DAMPs (damage-associated molecular patterns) können die Entzündungskaskade anstoßen. Zu den DAMPs zählen normalerweise intrazellulär lokalisierte Proteine wie die Hitzeschockproteine (z.B. HSP60) und HMGB1-Proteine (high mobility group box 1), aber auch Bestandteile der extrazellulären Matrix wie Hyaluronfragmente und Zellkernbestandteile, z.B. DNA. DAMPs stimulieren ebenfalls Toll-like Rezeptoren und aktivieren so NF- κ B und somit die Expression proinflammatorischer, aber auch immunmodulierender Zytokine wie Interferon- γ .

Zur Freisetzung des $\text{TNF}\alpha$ aus der Zelle erfolgt zunächst die Integration eines 26 kD großen Proteins in die Zellmembran. Aus diesem wird das freie $\text{TNF}\alpha$ proteolytisch freigesetzt (Pocsik et al. 1995). Jedoch besitzt auch das Transmembranprotein biologische Aktivität. Perez und Mitarbeiter beschrieben die Induktion von Nekrose bei Tumorzellen und virusinfizierten Zellen durch direkten Kontakt mit TNF-Transmembranprotein tragenden Zellen (Perez et al. 1990). Die zelluläre Wirkung des $\text{TNF}\alpha$ wird über zwei Rezeptoren, TNF-R1 und TNF-R2,

vermittelt (Dembic et al. 1990). Diese Rezeptoren werden auf allen Körperzellen außer Erythrozyten exprimiert.

TNF α spielt eine Schlüsselrolle bei der Auslösung und Regulation von Entzündungen und immunologischen Prozessen (Clark 2007). Die TNF α -Konzentration im Serum ist im gesunden Organismus verschwindend gering. TNF α wird jedoch im Rahmen von infektions- und verletzungsbedingten Entzündungsreaktionen (Tracey et al. 1987, Xuan et al. 2001), bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen, z.B. bei der rheumatoiden Arthritis (Maini et al. 1995), und bei Herzinsuffizienz (Malave et al. 2003) oft sehr rasch und in erheblichen Mengen systemisch oder lokal freigesetzt.

Die Wirkung von TNF α ist abhängig von der aktiven Zytokinmenge im Organismus sowie von der Dauer der Einwirkung (Tracey und Cerami 1989). Während einer lokalen Entzündung wird die Immunreaktion durch TNF α maßgeblich initiiert und gesteuert. Die Freisetzung weiterer Zytokine (IL-1, IL-6, IL-10) wird moduliert (Amiot et al. 1997), die Bildung neuer Blutgefäße wird stimuliert und somit die Wundheilung gefördert.

Während schwerer systemischer Entzündungsreaktionen bewirken extrem hohe Konzentrationen von TNF α durch Induktion des systemischen inflammatorischen Antwortsyndroms (SIRS, systemic inflammatory response syndrome) schwerwiegende, vor allem kardiovaskuläre Folgen, die unter Umständen zum Tode führen können. So kann man durch die experimentelle systemische Applikation von TNF α einen dem septischen Schock ähnlichen Zustand erzeugen (Schirmer et al. 1989). Unter dem Einfluss hoher Dosen von TNF α kommt es zum Blutdruckabfall und zur Abnahme des Herzzeitvolumens (Tabrizchi 2001b, Turner et al. 1989). Der Blutdruckabfall kommt durch Vasodilatation aufgrund vermehrt freigesetzten Stickstoffmonoxids (NO) nach Induktion der NO-Synthase (iNOS) durch TNF α zustande (Thiemermann et al. 1993). Zudem wird die kardiale Auswurfleistung vermindert (Forfia et al. 1998, Werdan et al. 2009). In vitro konnte gezeigt werden, dass die Einwirkung von TNF α die Kontraktionsfähigkeit von Kardiomyozyten einschränkt (Muller-Werdan et al. 1997). Edmunds und Woodward fanden bei isolierten perfundierten Rattenherzen eine Abnahme der Koronardurchblutung durch Vasokonstriktion unter dem Einfluss von TNF α (Edmunds und Woodward 1998). Diese Vasokonstriktion wird durch Thromboxan A₂ und Sphingosin vermittelt. Mit der verminderten

Koronardurchblutung am isolierten Herzen gingen auch ein verminderter linksventrikulärer Druck und damit eine reduzierte kardiale Leistungsfähigkeit einher.

In den vergangenen Jahren konnte in in-vitro Experimenten gezeigt werden, dass die Schlagfrequenzvariabilität von Kardiomyozyten durch Endotoxin (direkter Effekt des Endotoxins und über die Freisetzung von $\text{TNF}\alpha$ vermittelter Effekt) vermindert wird (Schmidt et al. 2007).

3. Ziele der Arbeit

Die Wirkung sowohl körperfremder (z.B. Endotoxin) als auch körpereigener Mediatoren (z.B. $\text{TNF}\alpha$, Interleukine, DAMPs) spielt bei der Pathophysiologie verschiedenster Erkrankungen, darunter Sepsis, Autoimmunerkrankungen und Herz-Kreislauferkrankungen, eine Schlüsselrolle. In zahlreichen Studien wurden Veränderungen der Parameter der Herzfrequenzvariabilität, Blutdruckfluktuationen sowie der Kopplung von Herzschlagfolge, Blutdruck und Atembewegungen bei diesen Krankheitsbildern nachgewiesen (Garrard et al. 1993, Godin et al. 1996, Goldstein et al. 1995, Pontet et al. 2003). Man geht davon aus, dass insbesondere $\text{TNF}\alpha$ entscheidend an der Pathogenese einer Vielzahl dieser Erkrankungen beteiligt ist (Straburzynska-Migaj et al. 2005, Chikanza 1999).

In tierexperimentellen Studien wurde bereits der Einfluss von Endotoxin auf die Variabilitätsparameter der autonomen Kreislaufregulation untersucht. Man fand eine Einschränkung der HFV sowie eine verminderte Kopplung der Organsysteme (Ellenby et al. 2001, Garrard et al. 1993, Godin et al. 1996). Es wurde schon berichtet, dass $\text{TNF}\alpha$ als wichtiges Zytokin und Entzündungsmediator auch einen Einfluss auf Herzfrequenzvariabilitätsparameter ausübt (Huston und Tracey 2011, Malave et al. 2003). Die Mechanismen dieser Beeinflussung der kardiovaskulären und kardiorespiratorischen Koordination wurden bisher jedoch nicht näher betrachtet.

Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss von $\text{TNF}\alpha$ auf Parameter der Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen sowie auf die Kopplung von Herzschlagfolge, Blutdruck und Atembewegung am Tiermodell zu untersuchen sowie mögliche Wirkmechanismen und Angriffspunkte des $\text{TNF}\alpha$ zu ergründen.

Da die Wirkung des Endotoxins zumindest teilweise über $\text{TNF}\alpha$ vermittelt wird, war eine Einschränkung von HFV und BDF sowie eine verminderte Kopplung von Herzfrequenz, Atmung und Blutdruck zu erwarten, wie dies nach Endotoxin-Einwirkung beobachtet worden war. Es wurde bei diesen Untersuchungen postuliert, dass die beschriebenen Veränderungen der Variabilitätsparameter zumindest teilweise durch $\text{TNF}\alpha$ vermittelt werden.

Um dies zu prüfen, wurden Parameter der HFV und BDF nach Applikation von $\text{TNF}\alpha$ ermittelt.

Durch die durchgeführte sukzessive vegetative Blockade am narkotisierten Tier, gefolgt von Muskelrelaxation mit maschinelle Beatmung und Thorakotomie sollten darüber hinaus die Wirkmechanismen des $\text{TNF}\alpha$ bei der Beeinflussung der HFV und BDF sowie seine Angriffspunkte bei der Einwirkung auf die kardiorespiratorische Kopplung untersucht werden.

Bisherige Untersuchungen ergaben, dass nichtlineare Parameter Veränderungen der Herzfrequenzvariabilität erfassen, die mit linearen Methoden nicht erfassbar sind (Maestri et al. 2007). Zudem ergaben sich Hinweise, dass nichtlineare Parameter Veränderungen der HFV und BDF empfindlicher widerspiegeln als die linearen Parameter (Dabire et al. 1998, Zwiener et al. 2004). Wir nahmen daher an, dass auch für die Erfassung der durch $\text{TNF}\alpha$ hervorgerufenen Veränderungen der Variabilitätsparameter nichtlineare Parameter sensitiver sind. Um dies zu überprüfen, wurden neben herkömmlichen linearen Parametern auch nichtlineare Parameter bestimmt.

Folgende Thesen sollten überprüft werden:

1. Die für Endotoxin nachgewiesene Wirkung auf Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen sowie deren Kopplung untereinander und mit der Atmung wird zu einem beträchtlichen Anteil durch $\text{TNF}\alpha$ vermittelt.
2. Die Wirkung des $\text{TNF}\alpha$ wird durch das „cholinerge antiinflammatorische System“ gehemmt.
3. Nichtlineare Parameter sind für die Erfassung der durch $\text{TNF}\alpha$ hervorgerufenen Veränderungen sensitiver als lineare Parameter.

4. Material und Methode

4.1. Versuchstiere

Als Versuchstier wurde die Ratte gewählt. Diese Spezies weist grundsätzlich eine dem Menschen ähnliche kardiorespiratorische Koordination, eine vergleichbare vasomotorische Steuerung und Gefäßrhythmik auf. Die Ratte ist zudem ein etabliertes Versuchstier in der Sepsisforschung. Um die interindividuelle Streuung der Werte zu minimieren, wurde ein Lewis-Ratten-Inzuchtstamm gewählt.

Für die Durchführung der Tierversuche lag eine Genehmigung der zuständigen Behörde vor.

Es wurden 30 weibliche Lewis-Ratten (Stamm: Lewis Hannover Rij MSD der Firma Harlan Winkelmann GmbH, Borcheln, Gewicht: $193,7 \pm 9,8$ g, Alter der Tiere: $2,7 \pm 0,3$ Monate) verwendet. Die Aufzucht der Tiere erfolgte im Institut für Versuchstierkunde (IVTK), Jena, Beutenberg Campus (Haltungsbedingungen: Tagphase: 6:00 bis 18:00 Uhr; Beleuchtungsstärke: 300 Lux in 1m Höhe, gedämpfter Geräuschpegel (40-50 dB). Die Raumtemperatur lag zwischen 18 und 24 °C bei einer Luftfeuchtigkeit von 50 – 70 %. Die Fütterung erfolgte mit Pellets (altromin 1314 FORTI) ad libitum, die Wasserversorgung durch mit HCl versetztem UV-behandeltem Wasser (pH= 2,7) ad libitum. Der Transport zum Versuchslabor erfolgte mit Transportkäfigen zu je fünf Tieren. Die Anpassungszeit vor Versuchsbeginn betrug mindestens 4 Tage.

4.2. Instrumentierung und Versuchsablauf

Um die subchronische Wirkung von $\text{TNF}\alpha$ auf die kardiorespiratorischen Fluktuationen und deren Kopplungsverhalten zu untersuchen, wurden die Versuchstiere randomisiert zunächst drei Untersuchungsgruppen zugeordnet: Gruppe 1 (n=9) diente als Kontrollgruppe. Diesen Tieren wurde kein $\text{TNF}\alpha$ appliziert. Bei den Gruppen 2 (n = 12) und 3 (n = 9) erfolgten die Messungen jeweils 12 Stunden nach intraperitonealer Injektion von $\text{TNF}\alpha$ (Gruppe 2: $2,5 \mu\text{g/kg}$, Gruppe 3: $3,3 \mu\text{g/kg}$). Bei der Auswertung der Untersuchung ergaben sich keine deutlichen Unterschiede in den Ergebnissen der Gruppen 2 und 3. Deshalb

wurde entschieden, die Einzelergebnisse dieser beiden Gruppen zusammenzufassen, um die Power der statistischen Auswertung zu optimieren. Deshalb wird die Bezeichnung „Gruppe 2: TNF α -behandelte Tiere“ hiermit eingeführt und nachfolgend ausschließlich so verwendet.

Zur Implantation der subkutanen Elektroden zur Erfassung von EKG und Impedanzrespirogramm wurden die Tiere zunächst mit Diethylether in einem Inhalationsgefäß narkotisiert und in Bauchlage fixiert. Die Narkose wurde nachfolgend durch ein Narkosegasgemisch aus Isofluran (1,5-2,0 %) und Sauerstoff (0,8 l/min) aufrechterhalten, das über eine geeignete Maske appliziert wurde. Das Erreichen des Narkosestadiums IIIb nach Paddleford und Erhardt wurde durch das Setzen eines mechanischen Schmerzreizes (Kneifen im Zehenzwischenraum) überprüft. Erfolgte auf den Schmerzreiz keine Abwehrreaktion (Wegziehen der Extremität), wurde das OP-Gebiet im Nacken der Ratte desinfiziert (Softasept-r-N[®] B. Braun AG, Melsungen, D) und rasiert. Nach zusätzlicher subkutaner Lokalanästhesie mit Xylocitin[®] 2 % (Jenapharm, Jena) erfolgte ein medianer Hautschnitt von ca. 2 cm Länge. Vom Hautschnitt ausgehend wurde anschließend die Haut mit einer anatomischen Pinzette stumpf vom Subkutangewebe abgehoben und die Elektroden jeweils links und rechts an der lateralen Thoraxwand im Bereich der maximalen Atemexkursion sowie über der Lendenwirbelsäule (Referenzelektrode) positioniert. Vorversuche hatten gezeigt, dass die Elektroden nicht dislozieren und zudem rasch im subkutanen Gewebe der Ratte einwachsen, sodass sie nicht weiter befestigt werden müssen. Die Elektroden bestanden aus drei runden Silberplättchen (Durchmesser 0,8 cm, Stärke 0,1 cm), an die jeweils ein isolierter Kupferdraht angelötet war. Die Drähte wurden in einem in Silikon eingegossenen Kunststoffsockel vereinigt, der als Steckerverbindung diente. Die Steckerverbindung wurde durch Naht an der Haut des Tieres fixiert.

Während der Narkoseausleitung erfolgte prophylaktische Antibiotikagabe mit jeweils 0,4 ml Oxytetracyclin[®] 5 % (Oxytetracyclinhydrochlorid, aniMedica, Horb, D) intramuskulär verteilt auf je 0,2 ml in beide Hinterläufe.

Anschließend wurden die Tiere einzeln in einen mit Streu und Zellstoff ausgelegten Käfig gesetzt, warm gehalten und mit Futter und Wasser versorgt.

Die Operation dauerte ca. 15 Minuten; 10-20 Minuten nach Beendigung der Narkosegaszufuhr waren die Tiere wieder erwacht.

Zwei bis drei Tage nach Implantation der EKG-Elektroden fand bei allen Tieren die Ableitung von EKG und Impedanzrespirogramm am wachen Tier statt (Tabelle 1). Die EKG-Elektroden waren zu diesem Zeitpunkt gut eingeeilt und die Tiere zeigten ein unauffälliges Verhalten.

Zur Wachableitung wurden die Tiere in ihren Haltungskäfigen belassen. Der Gitterdeckel des Käfigs wurde entfernt und durch eine stabile Pappe mit einem Loch in der Mitte ersetzt, durch das das Ableitungskabel geführt wurde. Durch die Abschirmung des direkten Lichteinfalls verhielten sich die Tiere ruhig. Der Wachheitsgrad der Ratte wurde beobachtet (Körperhaltung, Bewegungen, Zustand der Augen) und ebenso wie das Vorhandensein von Geräuschen im Raum sowie die Ausstattung des Käfigs (Streu / Zellstoff / Deckel) im Protokoll dokumentiert. Die untersuchten Tiere waren jeweils wach und wurden nicht durch äußere Einflüsse beunruhigt. Das Ableitungskabel wurde mit dem Steckersockel im Nacken der Ratte verbunden. Die Tiere waren durch das Kabel in ihrer Bewegungsfreiheit nicht eingeschränkt und zeigten keine Verhaltensänderungen. Nach Anschluss der Steckerverbindung wurde den Tieren eine Adaptationszeit von ca. 10 Minuten gewährt.

Die gewonnenen Daten wurden mit einer Abtastfrequenz von 4096 Hz (EKG) bzw. 128 Hz (Impedanzrespirogramm) auf einem PC gespeichert.

Bei den Tieren der Kontrollgruppe (Gruppe 1) schloss sich unmittelbar an die Wachableitung der weitere Versuchsablauf (Tabelle 1) an. Bei den Tieren der Gruppen 2 und 3 wurde zunächst $\text{TNF}\alpha$ intraperitoneal appliziert, der weitere Versuchsablauf fand nach einer Einwirkzeit von 12 Stunden statt und schloss eine nochmalige Ableitung von Herzfrequenz und Impedanzrespirogramm am wachen Tier ein.

Für die nachfolgenden weiteren Instrumentierungen sowie die zugehörigen Messungen wurden die Tiere mit Urethan (1 g/kg KG i.p.) narkotisiert. Bis zum vollständigen Wirkungseintritt des Anästhetikums wurden die Tiere für mindestens 30 min in den Käfig zurückgelegt. Während des gesamten Versuchs wurde die

Körpertemperatur rektal kontrolliert und durch Einsatz einer Wärmelampe im Normbereich stabilisiert (Ziel 37,5°C).

Nach Narkoseeintritt wurde zur kontinuierlichen invasiven Blutdruckmessung ein arterieller Katheter in die rechte A. carotis communis appliziert (Druckwandler: Statham Transducer PB 23, USA, Verstärker: Gleichspannungsmessbrücke, Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, D). Dabei wurde der N. vagus vorsichtig vom Gefäß-Nerven-Bündel isoliert, um eine mechanische Irritation des Nerven zu verhindern. In die rechte V. femoralis wurde ein venöser Katheter zur Medikamentengabe und zur Volumensubstitution gelegt.

Nach diesen Maßnahmen erfolgte die Aufzeichnung von EKG, Impedanzrespirogramm und arteriellem Blutdruck auf dem PC (Datenerfassung für Zustand 2: Narkose).

Danach wurden beide Nn. vagi im Halsbereich freigelegt. Dafür wurde in Supinationsstellung über den bereits vorhandenen medianen Hautschnitt die Nn. vagi dargestellt und durchtrennt (Datenerfassung für Zustand 3: Vagotomie). Nachfolgend wurde zunächst durch medikamentöse Blockade der (kardialen) β_1 -Rezeptoren durch i.v. Injektion von 0,1 mg/kg KG Metoprolol (Beloc[®], 5 mg / 5 ml, AstraZeneca GmbH) der sympathische Einfluss auf das Herz unterbunden. Nach Wirkungseintritt (optische Kontrolle am Monitor, kein weiterer Abfall des Blutdruckes und der Herzfrequenz) erfolgte die Datenaufzeichnung von EKG, Impedanzrespirogramm und arteriellem Blutdruck (Datenerfassung für Zustand 4: β_1 -Blockade). Anschließend erfolgte durch medikamentöse Blockade der (glattmuskulären) α_1 -Rezeptoren mit 0,8 mg/kg KG Urapidil i.v. (Ebrantil[®], 54,7 mg / 10 ml, Byk Gulden Lomberg Chemische Fabrik GmbH) die Ausschaltung des sympathischen Einflusses auf Widerstandsgefäße des arteriellen Systems. Nach Wirkungseintritt (optische Kontrolle am Monitor, kein weiterer Blutdruckabfall) erfolgte wiederum die Datenaufzeichnung von EKG, Impedanzrespirogramm und arteriellem Blutdruck (Datenerfassung für Zustand 5: α - und β -Blockade). Vor dem nächsten Versuchsabschnitt wurde die Qualität der Spontanatmung mit einer arteriellen Blutgasanalyse (BGA) überprüft, die bei allen Tieren normwertige (gute Oxygenierung, keine Hyperkapnie, keine Azidose oder Alkalose) Parameter ergab. Im Anschluss daran wurde zur Ausschaltung der Spontanatmung bei den Tieren eine Tracheotomie durchgeführt, 4mg/kg KG des Muskelrelaxanz Pancuronium (Pancuronium duplex[®], 8mg Pancuroniumbromid / 4ml, CuraMED Pharma GmbH)

intravenös appliziert und die Tiere mit einer Atemfrequenz von 45–50 Atemzügen pro Minute und einem Atemzugvolumen von 4–5 ml bei einem FiO_2 von 100 % beatmet. Danach erfolgte erneut die Datenaufzeichnung von EKG, Impedanzrespirogramm und arteriellem Blutdruck (Datenerfassung für Zustand 6: Relaxation & Beatmung). Zum Abschluss der Untersuchungsgruppe wurde der Thorax eröffnet, um atemmechanische Auswirkungen auf Erregungsbildung und Vorlast des Herzens auszuschalten. Dafür wurde der Thorax von subcostal her durch Durchtrennung von Haut und Zwerchfell eröffnet. Nach einer erneuten Blutgasanalyse wurden bei Bedarf die Beatmungsparameter angepasst. Es erfolgte eine letzte Datenaufzeichnung von EKG, Impedanzrespirogramm und arteriellem Blutdruck (Datenerfassung für Zustand 7: Thorakotomie). Anschließend wurden die Tiere durch einen Bolus von 10 ml gesättigter KCl-Lösung getötet. Sie Angriffspunkte der durchgeführten Interventionen auf die Koordination zwischen Herzschlag, Atmung und Blutdruck sind in Abbildung 3 dargestellt.

Tabelle 1: Versuchsablauf

Gruppe 1 (n=9) Kontrolle	Gruppe 2 (n=12) 2,5 – 3,3 $\mu\text{g/kg}$ $\text{TNF}\alpha$	Datenerfassung:
Wach ↓		EKG Impedanzrespirogramm
1. Narkose ↓ 2. Vagotomie ↓ 3. β_1 -Blockade ↓ 4. α_1 -Blockade ↓ 5. Relaxation & Beatmung ↓ 6. Thorakotomie		EKG Impedanzrespirogramm Blutdruck

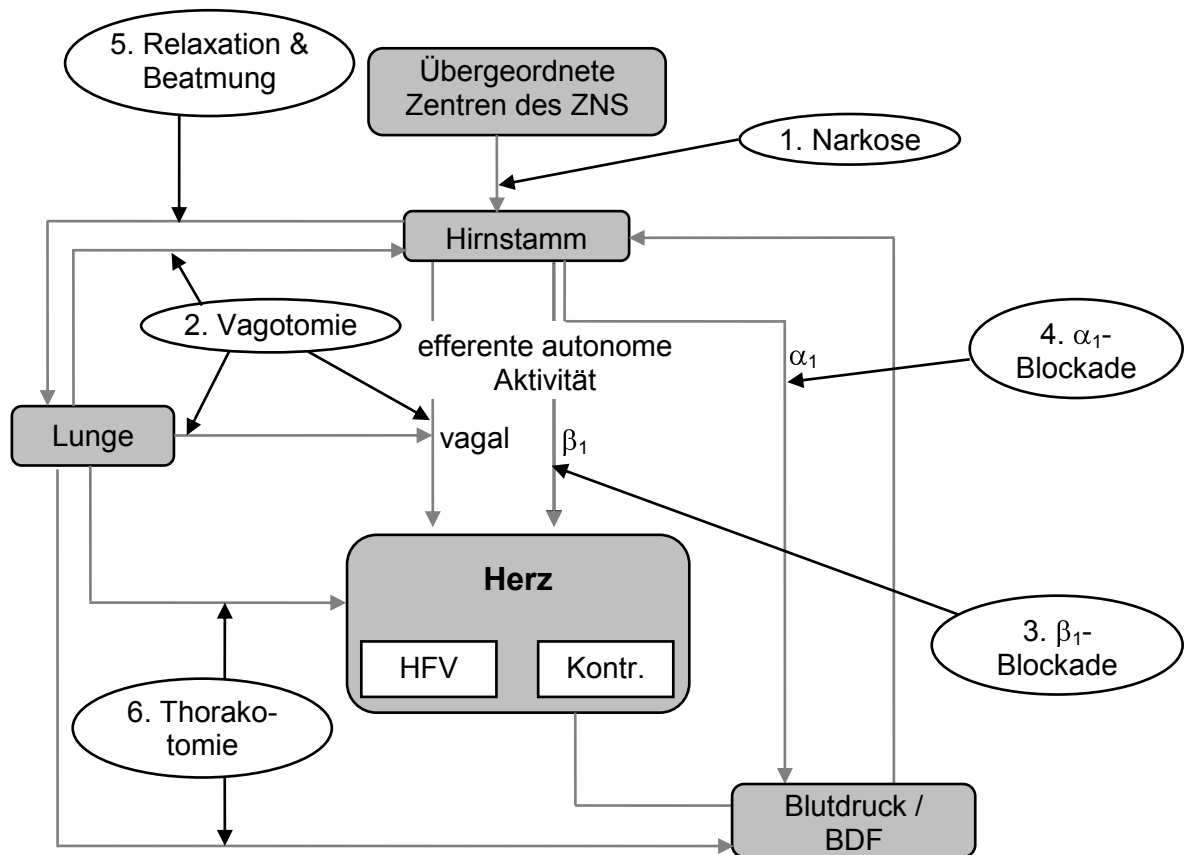


Abbildung 3: Schematische Darstellung der durch den Versuchsablauf sukzessiv unterbrochenen physiologischen Kommunikationswege. Die durchgeführten Maßnahmen sind in ovalen Kästen dargestellt und entsprechend dem Versuchsverlauf nummeriert. Abkürzungen: RSA = respiratorische Sinusarrhythmie, BDF = Blutdruckfluktuationen, resp. BD-Wellen = respiratorische Blutdruckwellen, HFV = Herzfrequenzvariabilität, Kontr. = Kontraktilität, β_1 = sympathische Efferenzen, die über β_1 -Rezeptoren wirken, α_1 = sympathische Efferenzen, die über α_1 -Rezeptoren wirken, mech. Kopplung = mechanische Kopplung.

4.3. Datenerfassung und Auswertung der Daten

4.3.1. Datenerfassung

Die Erfassung des EKGs und der Atembewegungen erfolgten über einen Apnoecard 300 (VEB MLW Medizinische Geräte, Berlin, DDR). Der arterielle Blutdruck wurde über einen Druckwandler (Statham Transducer PB 23, USA) aufgenommen und über eine Gleichspannungsmessbrücke verstärkt. EKG und Blutdruck wurden mit einer Abtastrate von 4096 Hz, die Atembewegungen mit 128 Hz zunächst auf einem PC gespeichert. Die Rohdaten der Blutdruckwerte wurden rekaliert und anschließend auf CDs archiviert.

4.3.2. Verarbeitung und Auswertung der Daten

Zunächst erfolgte Software-gestützt (WATISA[®], GJB Datentechnik GmbH, Langewiesen, D) die automatische Erkennung und Markierung der R-Zacken im EKG (Triggerung). Nach visueller Kontrolle einer fehlerfreien Triggerung der R-Zacken und ggf. Korrektur von Fehltriggerungen wurden die RR-Intervalle ermittelt und gespeichert. Das Intervall zwischen zwei normalen R-Zacken wird auch als NN-Intervall (normal zu normal) bezeichnet. Aus der Folge der NN-Intervalle wurden neben der mittleren Herzfrequenz die unten beschriebenen Herzfrequenzvariabilitätsparameter berechnet.

Die Berechnung aller HFV- und BDF-Parameter erfolgte mit Anwendungen für MATLAB[®] (The MathWorks, Inc., USA) und dem Mutual Information Analyzer V1.84 (Pompe, Greifswald, D).

Die Standardabweichung der NN-Intervalle (SDNN, ms) ist die Quadratwurzel der Varianz der NN-Intervalle. Die Varianz ist der Quotient aus der Summe aller Abweichungsquadrate (Quadrat der Abweichung eines jeden Stichprobenwertes vom arithmetischen Mittel) und der Anzahl der Stichprobenwerte. Mit der SDNN wird die gesamte Variabilität des jeweiligen Datensatzes erfasst. Sie ist beeinflussbar durch die Länge der Aufzeichnung, Trends und „Sprünge“ der Herzschlagfolge.

Die RMSSD (root mean square of successive differences, ms) ist die Quadratwurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Differenzen der Längen

aufeinander folgender RR-Intervalle. Die RMSSD erfasst besonders sensitiv die hochfrequente Variabilität einer Zeitreihe, so dass bei der Betrachtung der HFV vor allem der parasympathisch vermittelte Anteil quantifiziert werden kann.

Zu den geometrischen Methoden der HFV-Analyse zählen TINN und HRVtri. Diese beiden Maße erfassen die Gesamtvariabilität (TaskForce 1996) Die TINN (ms) ist die Dreiecksinterpolation aus dem Histogramm der NN-Intervalle; bestimmt wird die Basis eines Dreiecks, das aus dem Histogramm der NN-Intervalle konstruiert wird.

HRVtri (Heart rate variability triangular index) ist das Integral der Dichteverteilung (Anzahl der NN-Intervalle dividiert durch das Maximum der Dichteverteilung).

Aus der Folge der NN-Intervalle wurde dann die instantane Herzfrequenz berechnet und mit einer Abtastrate von 128 Hz gespeichert. Nachfolgend wurden diese Daten zur Vermeidung von Aliasingeffekten digital gefiltert (FIR-Filter) und mit einer Abtastfrequenz von 16 Hz gespeichert. Ebenso wurde mit den Aufzeichnungen der Atembewegungen und des arteriellen Blutdrucks verfahren.

Aus den so vorverarbeiteten Daten wurden Zeit-, Frequenz-, Kopplungs- und Trans-informationsparameter bestimmt.

Zur Berechnung des Leistungsspektrums wurde die Fast Fourier Transformation (FFT) eingesetzt. Im Leistungsspektrum wurden durch Integration zwei Frequenzbänder berechnet. Das Low-frequency Band (LF) umfasst den Bereich 0,26 – 0,5 Hz, das High-frequency Band (HF) 0,51 – 2,5 Hz.

Neben den Leistungen in den einzelnen Spektralbändern wurden für die Zeitreihen der Herzfrequenz und des arteriellen Blutdruckes die Gesamtleistung (ms^2 bzw. mmHg^2) und der LF/HF-Quotient als ein Maß der sympatho-vagalen Balance berechnet.

Um auch die Parameter der Transinformation, Autokorrelation sowie der Kreuzkorrelation und Kreuztransinformation im physiologischen Kontext betrachten zu können, wurden die Ausgangsdaten vor der Berechnung mit einem Bandpass- (0,26 – 2,5 Hz), einem Tiefpass- (0,26 – 0,5 Hz) und einem Hochpassfilter (0,51 – 2,5 Hz) gefiltert.

Die Autokorrelationsfunktion beschreibt die Korrelation zwischen aufeinander folgenden Werten innerhalb einer Serie von Messwerten. Für die Herzfrequenzfolge wurde der Abfall der Autokorrelationsfunktion in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des nächsten Herzschlages erfasst (pro NN-Intervall). Ein großer Abfall der Autokorrelationsfunktion spricht für eine geringe Abhängigkeit zwischen den Herzschlägen, ein geringer Abfall entsprechend für eine große Abhängigkeit (dies gilt für alle Autokorrelationsparameter). Weiterhin wurde der Abfall der Autokorrelationsfunktion in Bezug auf die Atmung (Zeitpunkt des nächsten Atemzuges, dies entspricht dem nächsten Gipfel der Funktion) kalkuliert. Dies ist der Abfall der Autokorrelationsfunktion über den Zeitraum mehrerer Herzschläge abhängig von der Atemfrequenz.

Aus der Zeitreihe der Blutdruckwerte wurde der Abfall der Autokorrelationsfunktion pro 250 ms bestimmt. Dies entspricht in etwa der Zeit bis zum Auftreten des nächsten Blutdruckwertes nach Tiefpassfilterung. Auch für den arteriellen Blutdruck wurde außerdem der Abfall der Autokorrelationsfunktion in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des nächsten Atemzuges berechnet.

Zur Erfassung nichtlinearer Komponenten der Herzfrequenzvariabilität wurden Parameter der Transinformation gewählt. Die Transinformation (auto mutual information, AMI) beschreibt ganz allgemein diejenige Information, die über einen abstrakten Nachrichtenkanal vom Sender zum Empfänger pro Zeiteinheit übertragen wird. Als Funktion der AMI von einem je nach betrachteter Zeitreihe zu bestimmenden Zeitintervall τ ergibt sich die Autotransinformationsfunktion (AMIF). Die AMIF beschreibt somit die Vorhersagbarkeit einer Zeitreihe in Abhängigkeit von der Zeitentwicklung τ eines Ereignisses. Der Abfall der Transinformationsfunktion wird über das Zeitintervall τ berechnet. Der Abfall der Transinformationsfunktion ist maximal, wenn ein komplett zufälliges Signal betrachtet wird. Bei regelmäßigen Signalen, zum Beispiel einer Sinusschwingung, ist der Abfall der AMIF gleich null, das heißt, die Zeitreihe ist komplett vorhersagbar (Abbildung 2).

Aus den gefilterten Daten der Momentanherzfrequenz wurde der Abfall der AMIF in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des folgenden Herzschlages (bit pro NN-Intervall) berechnet. Damit wird die Vorhersagbarkeit eines Herzschlages berechnet, wenn der unmittelbar vorausgehende Herzschlag bekannt ist. Ähnlich wie bei der

Autokorrelationsfunktion spricht ein großer Abfall der AMIF für ein hohes Maß an Komplexität und einer entsprechend geringen Vorhersagbarkeit. Ein geringer Abfall bedeutet wenig Komplexität und hohe Vorhersagbarkeit. Darüber hinaus wurde der Abfall der AMIF über den Zeitraum bis zum nächsten Atemzug (bit pro Atemzug) berechnet. Für die Zeitreihe des arteriellen Blutdruckes wurde der Abfall der AMIF in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des nächsten Herzschlages (bit) sowie in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des nächsten Atemzuges (bit) berechnet.

Um Aussagen über die Abhängigkeit der Zeitreihen untereinander treffen zu können, wurden sowohl lineare als auch komplexe Kopplungsparameter bestimmt. Die Kreuzkorrelationsfunktion beschreibt als linearer Parameter die Ähnlichkeit zweier Zeitreihen. Für jeweils zwei der von uns erfassten Zeitreihen (Herzfrequenz – Blutdruck, Herzfrequenz – Atmung und Blutdruck – Atmung) wurde die maximale Kreuzkorrelation berechnet. Diese kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen und liefert eine Aussage über die lineare Abhängigkeit zweier Zeitreihen.

Die maximale Kreuztransinformation (maximal Cross mutual information function, mCMIF, bit) wurde ebenfalls für jeweils zwei Zeitreihen berechnet (s.o.). Sie erlaubt eine Aussage über komplexe (lineare und nichtlineare) Abhängigkeiten zweier Zeitreihen. Sie nimmt Werte von 0 bis 4 bit an.

4.4. Statistische Auswertung

Die Daten sind als Boxplots und als Tabellen dargestellt.

Signifikante Unterschiede innerhalb einer Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand wurden mit dem Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben ermittelt. Das Signifikanzniveau wurde aufgrund der Mehrfachtestung der einzelnen Stichproben auf 0,01 korrigiert.

Signifikante Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe wurden mit dem Mann-Whitney-Test für unabhängige Stichproben ermittelt (signifikante Unterschiede für $p < 0,05$).

5. Ergebnisse

Wie bereits im Abschnitt „Material und Methode“ ausgeführt, wurden die ursprünglichen $TNF\alpha$ -Gruppen 2 und 3 zu einer Gruppe zusammengefasst, da sich in der Auswertung keine deutlichen Unterschiede in den Ergebnissen der Gruppen 2 und 3 ergaben. Hiermit sollte die Power der statistischen Auswertung optimiert werden.

Während des gesamten Versuchsablaufes waren die Tiere kardiopulmonal stabil. Die Tabellen 2 bis 5 dienen lediglich der Übersicht über die gemessenen Parameter und enthalten keine Informationen über signifikante Unterschiede. Tabelle 2 und Tabelle 3 zeigen die Mittelwerte und Schwankungsbreite von mittlerer Herzfrequenz und arteriellem Mitteldruck. Die physiologische Herzfrequenz der Ratte liegt zwischen 200 und 400 Schlägen pro Minute, der arterielle Mitteldruck um 80 mmHg.

Sowohl während der Spontanatmung als auch während der volumenkontrollierten Beatmung lagen pO_2 , pCO_2 und pH im tolerablen Bereich (Tabelle 4, s.a. Methodendiskussion). Die Körpertemperatur der Tiere lag zu Versuchsbeginn zumeist etwas unterhalb der Normaltemperatur, im Versuchsverlauf wurden Werte im Normbereich (37,5 – 38,5 °C) erreicht (Tabelle 5).

Tabelle 2: Mittlere Herzfrequenz (1/min) in Kontroll- und $TNF\alpha$ Gruppe in den jeweiligen Versuchsabschnitten. Angabe des Medians (Minimum, Maximum).

	Wach	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert & beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 Kontrolle	332 (287-393)	344 (282-463)	448 (414-501)	391 (371-442)	385 (330-434)	460 (429-508)	461 (437-508)
Gruppe 2 $TNF\alpha$	327 (252-412)	252 (212-341)	367 (322-488)	350 (284-479)	326 (281-447)	396 (302-475)	442 (346-491)

Tabelle 3: Mittlerer arterieller Blutdruck (mmHg) in der Kontroll- und TNF α -Gruppe in den jeweiligen Versuchsabschnitten. Angabe des Medians (Minimum, Maximum).

	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert & beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 Kontrolle	78 (72-109)	72 (68-107)	73 (57-115)	44 (35-66)	54 (32-79)	60 (32-82)
Gruppe 2 TNF α	77 (51-107)	75 (52-119)	71 (21-119)	52 (35-100)	78 (64-126)	63 (28-79)

Tabelle 4: Ergebnisse der Blutgasanalyse in der Kontroll- und der TNF α -Gruppe während Spontanatmung und kontrollierter Beatmung. Angabe des Medians (Minimum, Maximum); pO $_2$ – Sauerstoffpartialdruck, pCO $_2$ – Kohlendioxidpartialdruck

	pO $_2$ (mmHg)		pCO $_2$ (mmHg)		pH	
	Gruppe 1 Kontrolle	Gruppe 2 TNF α	Gruppe 1 Kontrolle	Gruppe 2 TNF α	Gruppe 1 Kontrolle	Gruppe 2 TNF α
Spontanatmung	Keine Daten	110 (86-171)	Keine Daten	38,9 (34,6-48,0)	Keine Daten	7,45 (7,36-7,48)
beatmet	240 (226-257)	261 (66-335)	30,1 (29,4-38,0)	46,2 (22,4-67,8)	7,42 (7,36-7,5)	7,37 (7,25-7,63)

Tabelle 5: Körpertemperatur (°C) der Tiere der Kontrollgruppe und der TNF α -Gruppe zu Versuchsbeginn und im beatmeten Zustand (Median, Minimum, Maximum)

	Gruppe 1 Kontrolle	Gruppe 2 TNF α
Versuchsbeginn	36,2 (34,8-39,0)	35,3 (33,7-37,6)
beatmet	37,4 (37,0-38,4)	37,1 (35,7-39,5)

5.1. Lineare Parameter der Herzfrequenzvariabilität

5.1.1. Herzfrequenzniveau

Im Wachzustand unterschied sich das Herzfrequenzniveau bei den Tieren der der $TNF\alpha$ -Gruppe nicht von der Kontrollgruppe (Abbildung 4). Unter Urethannarkose war das Herzfrequenzniveau nach $TNF\alpha$ -Gabe im Vergleich zur Kontrollgruppe um 26,7 % vermindert ($p < 0,05$). Auch in den folgenden Zuständen (β -adrenerge Blockade bis Relaxation und Beatmung) blieb dieser Unterschied nachweisbar ($p < 0,05$). Nach der Thorakotomie war kein relevanter Unterschied im Herzfrequenzniveau zwischen den beiden Gruppen mehr nachweisbar.

In der $TNF\alpha$ -Gruppe wurde im Gegensatz zur Kontrollgruppe das mittlere Herzfrequenzniveau durch Narkose im Vergleich zum wachen Zustand um 23 % vermindert ($p < 0,01$). Nach Vagotomie kam es in der Kontrollgruppe zu einem 30 %igen, in der $TNF\alpha$ -Gruppe zu einem 46 %igen Anstieg der Herzfrequenz ($p < 0,01$), nach β -adrenerger Blockade wiederum zu einem signifikanten Abfall in beiden Gruppen ($p < 0,01$). Nach zusätzlicher Blockade der α -adrenergen Rezeptoren kam es in der $TNF\alpha$ -Gruppe verglichen mit der alleinigen β -Blockade zu einer Reduktion der Herzfrequenz ($p < 0,01$). Nach Muskelrelaxation und künstlicher Beatmung war die mittlere Herzfrequenz in der Kontrollgruppe um 19 %, in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 21 % höher als im vorhergehenden Zustand der Blockade der α - und β -Rezeptoren ($p < 0,01$). Nach der Thorakotomie kam es nur in der $TNF\alpha$ -Gruppe zu einem nochmaligen Anstieg der Herzfrequenz im Vergleich zum Zustand der Muskelrelaxation und Beatmung ($p < 0,01$).

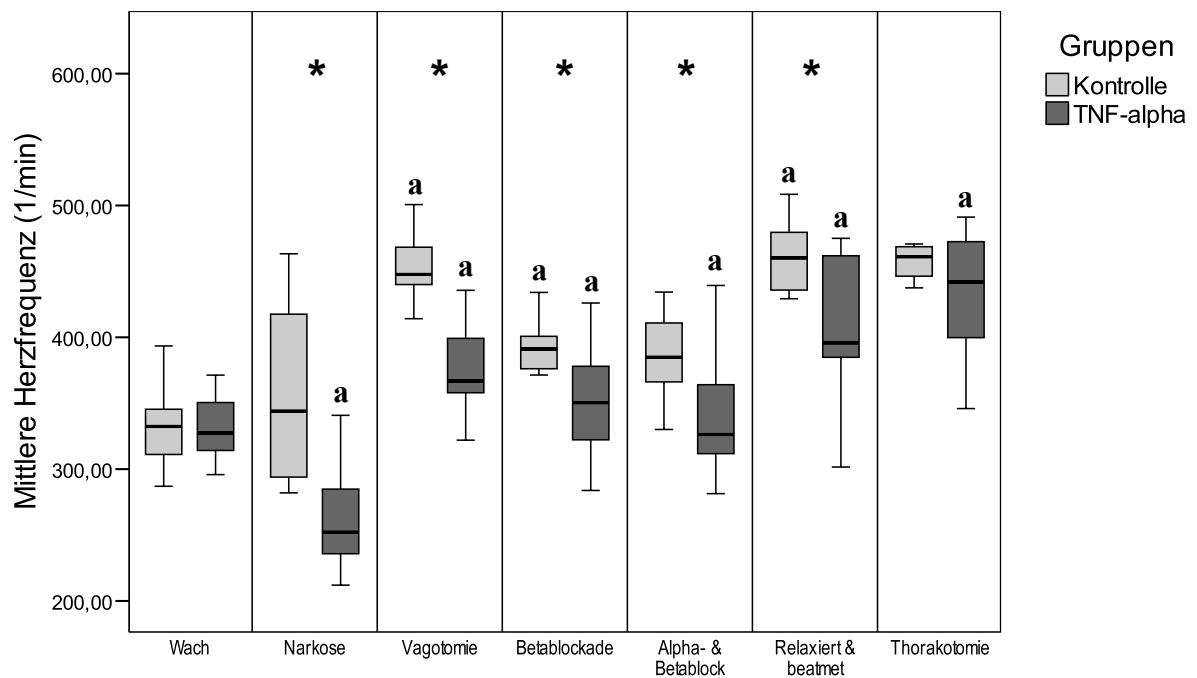


Abbildung 4: Mittlere Herzfrequenz (in Schlägen pro Minute, 1/min), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe. (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

5.1.2. Standardabweichung der Normal-zu-Normal-Intervalle (SDNN)

Durch $TNF\alpha$ wurde die Standardabweichung der NN-Intervalle im Zustand der Narkose um 53,8 % im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht ($p < 0,05$). Nach der Vagotomie und im weiteren Verlauf war dieser Unterschied nicht mehr nachweisbar (Abbildung 5).

In Narkose war die Standardabweichung der NN-Intervalle in der Kontrollgruppe um 60 % geringer als im wachen Zustand ($p < 0,01$) (Abbildung 5). Nach Vagotomie kam es in der Kontrollgruppe zu einem 52 %igen, in der $TNF\alpha$ -Gruppe zu einem 73 %igen Abfall der SDNN im Vergleich zur Narkose ($p < 0,01$). Nach der β -adrenergen Blockade kam es im Vergleich zum vagotomierten Zustand nur in der Kontrollgruppe zu einem Anstieg der SDNN ($p < 0,01$). Im relaxierten und beatmeten Zustand war die SDNN nur in der $TNF\alpha$ -Gruppe geringer als im Zustand der α - und β -Blockade ($p < 0,01$).

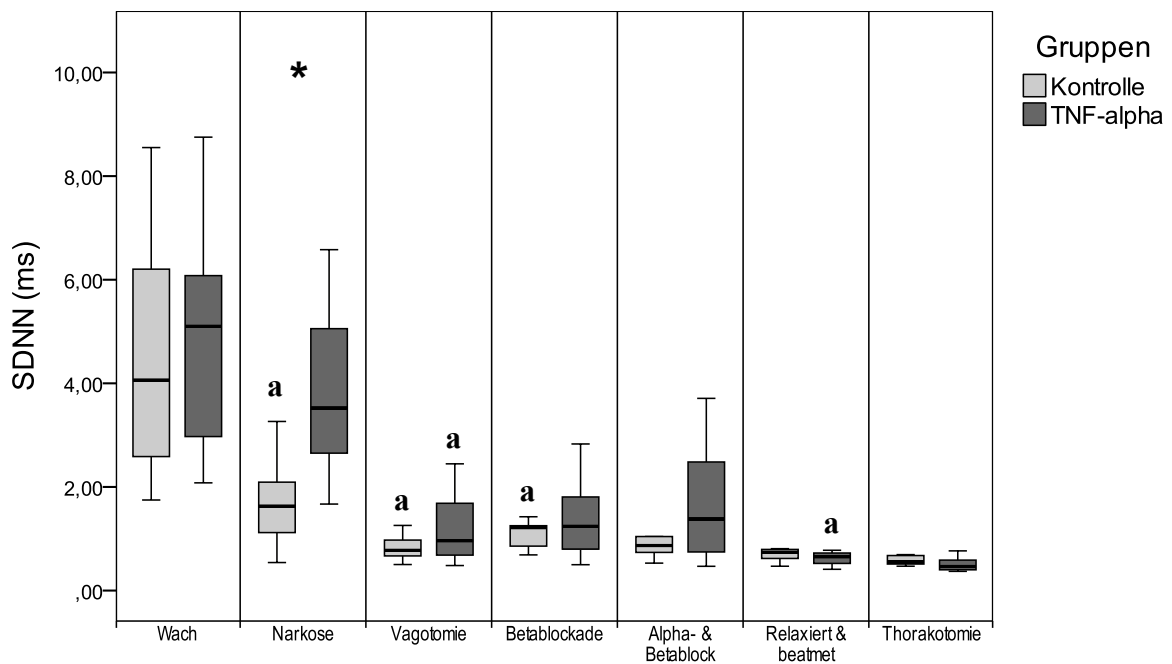


Abbildung 5: Standardabweichung der Normal-zu-Normal-Intervalle (SDNN, ms) der Herzfrequenz, Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe (gesamter Frequenzbereich). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile; jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

5.1.3. RMSSD (Root mean square of successive differences)

In der $TNF\alpha$ -Gruppe war die RMSSD im Zustand der Narkose um 132 % und im Zustand der Vagotomie um 45 % höher als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Tabelle 6).

In Narkose war die RMSSD in der Kontrollgruppe, jedoch nicht in der $TNF\alpha$ -Gruppe, um 50 % geringer als im wachen Zustand ($p < 0,01$) (Tabelle 6). Nach Vagotomie kam es in beiden Gruppen zu einem weiteren Abfall der RMSSD im Vergleich zur Narkose (um 62 % in der Kontrollgruppe, 76 % in der $TNF\alpha$ -Gruppe) ($p < 0,01$). Nach der β -adrenergen Blockade kam es im Vergleich zum vagotomierten Zustand nur in der Kontrollgruppe zu einem Anstieg der RMSSD ($p < 0,01$). Im relaxierten und beatmeten Zustand war die RMSSD nur in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 33 % geringer als im Zustand der α - und β -Blockade ($p < 0,01$).

*Tabelle 6: Root mean square of successive differences (RMSSD, ms) der Herzfrequenz. Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der TNF α -Gruppe Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der TNF α -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Wach	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert & beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	4,17 (2,84-6,2)	2,07 (1,26-3,22) ^a	0,78 (0,72-0,94) ^a	1,04 (0,92-1,32) ^a	0,90 (0,82-1,07)	0,77 (0,72-0,89)	0,71 (0,68-0,73)
Gruppe 2 (TNF α)	4,80 (3,71-6,04)	4,81 (3,41-6,66)*	1,13 (0,79-1,71) ^{a, *}	1,12 (0,95-1,69)	1,23 (0,86-2,26)	0,83 (0,71-0,87) ^a	0,68 (0,64-0,82)

5.1.4. Dreiecksinterpolation aus dem Histogramm der Normal-zu-Normal-Intervalle (TINN)

Der Vergleich beider Gruppen ergab im Zustand der Narkose eine um 116 % höhere TINN in der TNF α -Gruppe als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Tabelle 7). Nach der Vagotomie war dieser Effekt nicht mehr nachweisbar. Im Zustand der Thorakotomie war die TINN in der TNF α -Gruppe um 25 % geringer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

In beiden Gruppen wurde die TINN durch Narkose signifikant reduziert (um 59 % in der Kontrollgruppe, um 25 % in der TNF α -Gruppe, $p < 0,01$). Nach der Vagotomie war die TINN in beiden Gruppen nochmals signifikant niedriger als in Narkose ($p < 0,01$). Die Blockade der α - und β -Rezeptoren und die Relaxation und Beatmung hatte in der Kontrollgruppe keinen Einfluss auf die TINN. In der TNF α -Gruppe war die TINN im Zustand der Relaxation und Beatmung um 52 % geringer als während der α - und β -Blockade ($p < 0,01$). Durch Thorakotomie kam es in der TNF α -Gruppe zu keiner weiteren Veränderung. In der Kontrollgruppe war die TINN nach der Thorakotomie signifikant geringer als im Zustand der Relaxation und Beatmung ($p < 0,01$).

*Tabelle 7: Dreiecksinterpolation aus dem Histogramm der Normal-zu-Normal-Intervalle (TINN), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der TNF α -Gruppe. Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der TNF α -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Wach	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert & beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	10,28 (6,57-14,98)	4,22 (2,91-5,29) ^a	2,06 (1,79-2,55) ^a	3,14 (2,23-3,28)	2,33 (1,94-2,72)	1,91 (1,71-2,09)	1,55 (1,34-1,8) ^a
Gruppe 2 (TNF α)	12,12 (7,42-15,18)	9,14 (6,69-12,42) ^{a, *}	2,37 (1,84-4,24) ^a	3,22 (2,04-4,68)	3,53 (1,93-6,41)	1,68 (1,36-1,9) ^a	1,16 (1,05-1,54) [*]

5.1.5. Triangular-Index der Herzfrequenzvariabilität (HRVtri)

In Narkose war der HRVtri in der TNF α -Gruppe um 29 % größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Tabelle 8).

In der Kontrollgruppe war der Triangularindex der Herzfrequenzvariabilität im Zustand der Narkose um 28 % geringer als im wachen Zustand ($p < 0,01$). In der TNF α -Gruppe kam es erst nach der Vagotomie zu einer Reduktion um 33 % im Vergleich zur Narkose ($p < 0,01$). Im Zustand der Relaxation und Beatmung war der HRVtri in der TNF α -Gruppe signifikant geringer als während der α - und β -Blockade ($p < 0,01$).

*Tabelle 8: Triangular-Index der Herzfrequenzvariabilität (HRVtri), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der TNF α -Gruppe. Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der TNF α -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Wach	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert & beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	1,648 (1,34-1,929)	1,19 (1,069-1,308) ^a	1,0 (1,0-1,019)	1,051 (1,004-1,086)	1,009 (1,0-1,039)	1,0 (1,0-1,001)	1,0 (1,0-1,001)
Gruppe 2 (TNF α)	1,67 (1,366-2,072)	1,541 (1,344-1,782) [*]	1,028 (1,006-1,203) ^a	1,085 (1,008-1,270)	1,145 (1,003-1,492)	1,001 (1,0-1,006) ^a	1,0 (1,0-1,003)

5.1.6. Leistung in den Spektralbändern

Gesamtleistung der Herzfrequenzvariabilität

Während alleiniger Urethan-Narkose wurde in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe eine um 59 % höhere Gesamtleistung der HFV nachgewiesen als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Abbildung 6). Nach Muskelrelaxation und während der Beatmung sowie im Zustand der Thorakotomie war die Gesamtleistung der HFV bei den mit $\text{TNF}\alpha$ behandelten Tieren um 58 % bzw. 45 % geringer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

Durch Narkose wurde die Gesamtleistung der HFV in der Kontrollgruppe im Vergleich zum Wachzustand auf 27 % verringert ($p < 0,01$). In der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe kam es zu einem Abfall auf 38 %, dieser war jedoch statistisch nicht signifikant). Nach der Vagotomie betrug die Gesamtleistung in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe nur noch 35 % des Wertes während der alleinigen Narkose ($p < 0,01$). In der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe wurde die Gesamtleistung im Zustand der Relaxation und Beatmung im Vergleich zum vorherigen Zustand signifikant reduziert ($p < 0,01$).

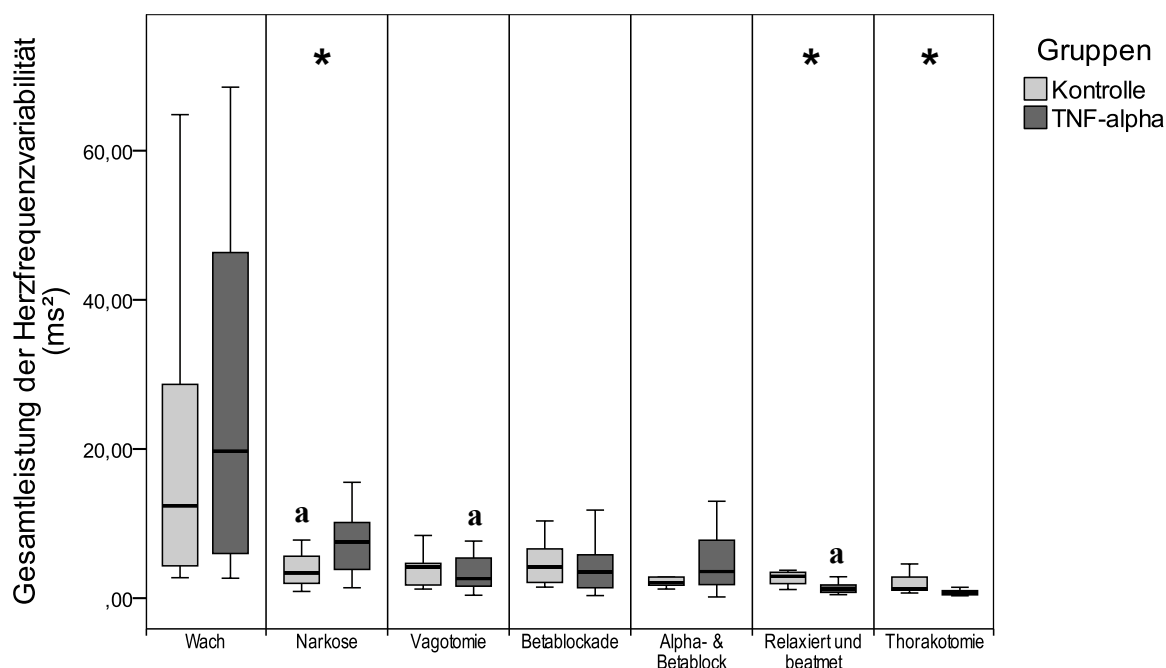


Abbildung 6: Gesamtleistung der Herzfrequenzvariabilität (ms^2), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,26-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

Leistung der Herzfrequenzvariabilität im HF-Band

Im Zustand der Muskelrelaxation und Beatmung sowie nach der Thorakotomie war in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe die Leistung im HF-Band im Vergleich zur Kontrollgruppe um 58 % bzw. 46 % reduziert ($P < 0,05$) (Tabelle 9).

Durch Narkose wurde in der Kontrollgruppe der HF-Anteil der Leistung der HFV auf 30 % des Ausgangswertes verringert ($p < 0,01$). In der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe kam es zu einem Abfall der Leistung auf 51 %, der statistisch jedoch nicht signifikant war. Durch die anschließende Vagotomie wurde der HF-Anteil der Leistung in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe im Vergleich zum Zustand der Narkose um 64 % verringert ($p < 0,01$). Im Zustand der Relaxation und Beatmung war der HF-Anteil der Leistung in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe um 59 % geringer als während der α - und β -Blockade ($p < 0,01$).

*Tabelle 9: Leistung der Herzfrequenzvariabilität im HF-Band (0,51-2,5 Hz) (ms^2), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe. Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Wach	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert und beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	10,84 (3,35-21,41)	3,20 (1,79-5,32) ^a	4,11 (1,74-4,63)	4,15 (2,1-6,57)	2,05 (1,71-2,81)	2,92 (1,95-3,46)	1,25 (0,92-3,13)
Gruppe 2 ($TNF\alpha$)	13,51 (4,51-32,62)	6,83 (3,53-9,71)	2,43 (1,56-5,33) ^a	3,49 (1,38-5,68)	3,51 (1,79-7,05)	1,22 (0,77-1,76) ^{a,*}	0,68 (0,44-1,0) *

Leistung der Herzfrequenzvariabilität im LF-Band

Im Vergleich beider Gruppen war die Leistung im LF-Band im Zustand der α - und β -adrenergen Blockade in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 115 % größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Tabelle 10). Auch im Wachzustand und während der Narkose war die Leistung in der $TNF\alpha$ -Gruppe deutlich größer als in der Kontrollgruppe (um 63 % im Wachzustand bzw. um das 7fache in Narkose), diese Unterschiede waren statistisch nicht signifikant (am ehesten aufgrund großer Streubreite der Werte).

Durch Narkose wurde die Leistung der HFV im LF-Band in der Kontrollgruppe um 96 %, in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 84 % reduziert ($p < 0,01$). In der $TNF\alpha$ -Gruppe kam es nach der Vagotomie zum einem weiteren signifikanten Abfall der Leistung im Vergleich zur alleinigen Narkose um 90 % ($p < 0,01$), in der Kontrollgruppe zu einem (nicht-signifikanten) Abfall um 59 %. In beiden Gruppen war im Zustand der Relaxation und Beatmung die Leistung geringer als im Zustand der α - und β -Blockade (Reduktion um 82 % in der Kontrollgruppe, um 90 % in der $TNF\alpha$ -Gruppe, $p < 0,01$).

*Tabelle 10: Leistung der Herzfrequenzvariabilität im LF-Band (0,26-0,5 Hz) (ms^2), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe. Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Wach	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert und beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	1,759 (0,693-7,888)	0,058 (0,030-0,578) ^a	0,024 (0,017-0,031)	0,023 (0,015-0,034)	0,017 (0,013-0,024)	0,003 (0,002-0,005) ^a	0,003 (0,002-0,006)
Gruppe 2 ($TNF\alpha$)	2,87 (0,83-10,229)	0,4698 (0,197-0,616) ^a	0,03 (0,02-0,054) ^a	0,023 (0,019-0,059)	0,037 (0,019-0,082) *	0,004 (0,002-0,004) ^a	0,002 (0,002-0,003)

LF/HF Quotient der Herzfrequenzvariabilität

Der LF/HF-Quotient der HFV war in der $TNF\alpha$ -Gruppe nach Vagotomie um das 1,1fache sowie nach β -adrenerger Blockade um das 1,34fache höher ($p < 0,05$) als in der Kontrollgruppe (Tabelle 11). Nach kombinierter α - und β -adrenerger Blockade war der LF/HF-Quotient in der $TNF\alpha$ -Gruppe immer noch um das 1,5fache größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Im Zustand der Relaxation und Beatmung war in der $TNF\alpha$ -Gruppe ein signifikant höherer LF/HF-Quotient als in der Kontrollgruppe nachweisbar ($p < 0,05$).

In Narkose war der LF/HF-Quotient in der Kontrollgruppe um 77 % und in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 66 % geringer als im wachen Zustand ($p < 0,01$). Nach der Vagotomie kam es in beiden Gruppen zu einer weiteren deutlichen Reduktion des LF/HF-Quotienten, der jedoch nur in der $TNF\alpha$ -Gruppe statistisch signifikant war ($p < 0,01$). Im Zustand der Relaxation und Beatmung war LF/HF in beiden Gruppen signifikant geringer als während der α - und β -Blockade ($p < 0,01$).

*Tabelle 11: LF-HF-Quotient der Herzfrequenzvariabilität, Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der TNF α -Gruppe (0,26-2,5 Hz). Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der TNF α -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Wach	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert und beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	0,2296 (0,1348- 0,3590)	0,0520 (0,0094-0,873) ^a	0,0068 (0,0059- 0,0112)	0,0050 (0,0043- 0,0054)	0,0068 (0,0043- 0,0043)	0,0011 (0,0009- 0,0018) ^a	0,002 (0,0008-0,006)
Gruppe 2 (TNF α)	0,2341 (0,1474- 0,4751)	0,0787 (0,0416- 0,1078) ^a	0,0143 (0,0072- 0,0250) ^{a, *}	0,0117 (0,0047-0,029) *	0,017 (0,0064-0,05)	0,0027 (9,0018-0,005) ^{a, *}	0,0038 (0,0025- 0,0053)

5.1.7. Abfall der Autokorrelationsfunktion bezogen auf den nächsten Herzschlag

Im Vergleich beider Gruppen wurde im Zustand der Thorakotomie in der TNF α -Gruppe ein um 48,3 % höherer Abfall der ACF als in der Kontrollgruppe nachgewiesen ($p < 0,05$) (Abbildung 7).

Bei den Tieren der TNF α -Gruppe war der Abfall der Autokorrelationsfunktion im Zustand der Narkose um 14,4 % geringer als im wachen Zustand ($p < 0,01$). Im Zustand der Relaxation war in der TNF α -Gruppe der Abfall der ACF im Vergleich zur α - und β -Blockade um 50 % gesteigert ($p < 0,01$). Im Zustand der Thorakotomie kam es in der TNF α -Gruppe noch einmal zu einem um 48 % größeren Abfall der ACF als im Zustand der Relaxation und Beatmung ($p < 0,01$). In der Kontrollgruppe war der Abfall der ACF nach der Vagotomie um 44 % geringer als während der Narkose, dieser Unterschied war jedoch nicht statistisch signifikant ($p=0,021$).

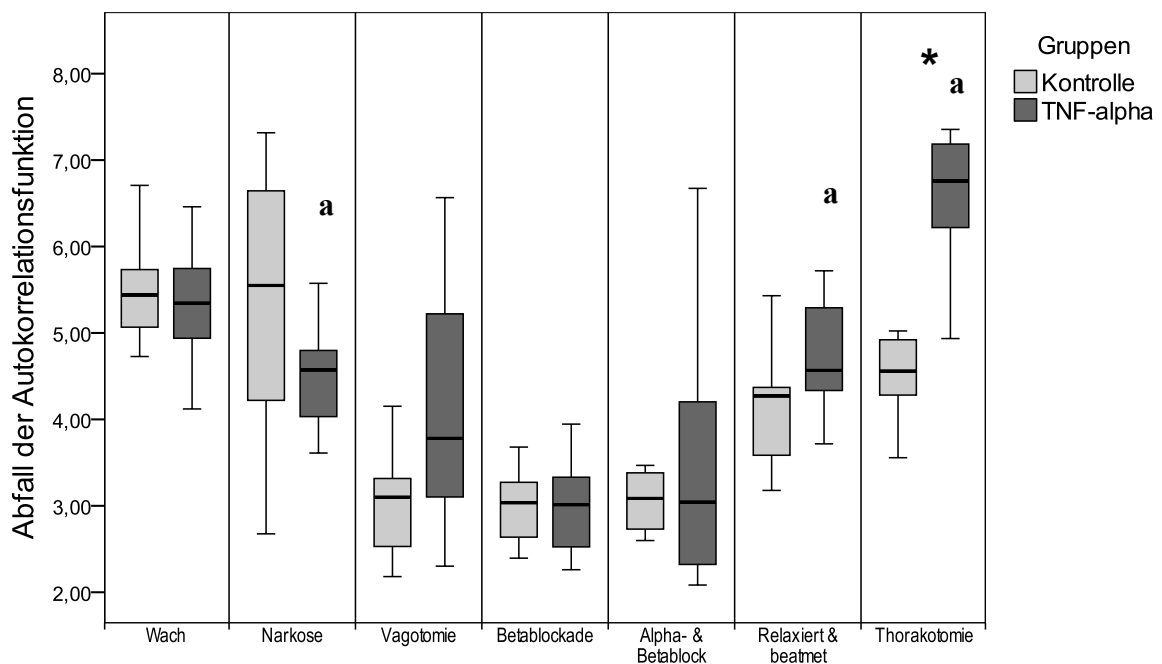


Abbildung 7: Abfall der Autokorrelationsfunktion der Herzschlagfolge bezogen auf den nächsten Herzschlag (pro Abstand zwischen 2 normalen Herzaktionen, pro NN), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe. (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

5.1.8. Abfall der Autokorrelationsfunktion bezogen auf den nächsten Atemzug

Ab dem Zustand der Muskelrelaxation und Beatmung wurde in der $TNF\alpha$ -Gruppe ein um 77 % bzw. um 106 % größerer Abfall der ACF als in der Kontrollgruppe nachgewiesen ($p < 0,05$) (Abbildung 8).

In beiden Gruppen wurde der Abfall der ACF durch die Vagotomie verringert (um 80 % in der Kontrollgruppe und um 63 % in der $TNF\alpha$ -Gruppe). Dieser Unterschied war jedoch nur in der $TNF\alpha$ -Gruppe statistisch signifikant ($p < 0,01$). Im Zustand der Relaxation und Beatmung war der Abfall der ACF in der $TNF\alpha$ -Gruppe um das 1,3fache höher als während der α - und β -adrenergen Blockade ($p < 0,01$). Nach der Thorakotomie war der Abfall der ACF in der $TNF\alpha$ -Gruppe nochmals um 43 % größer als im Zustand der Relaxation und Beatmung ($p < 0,01$).

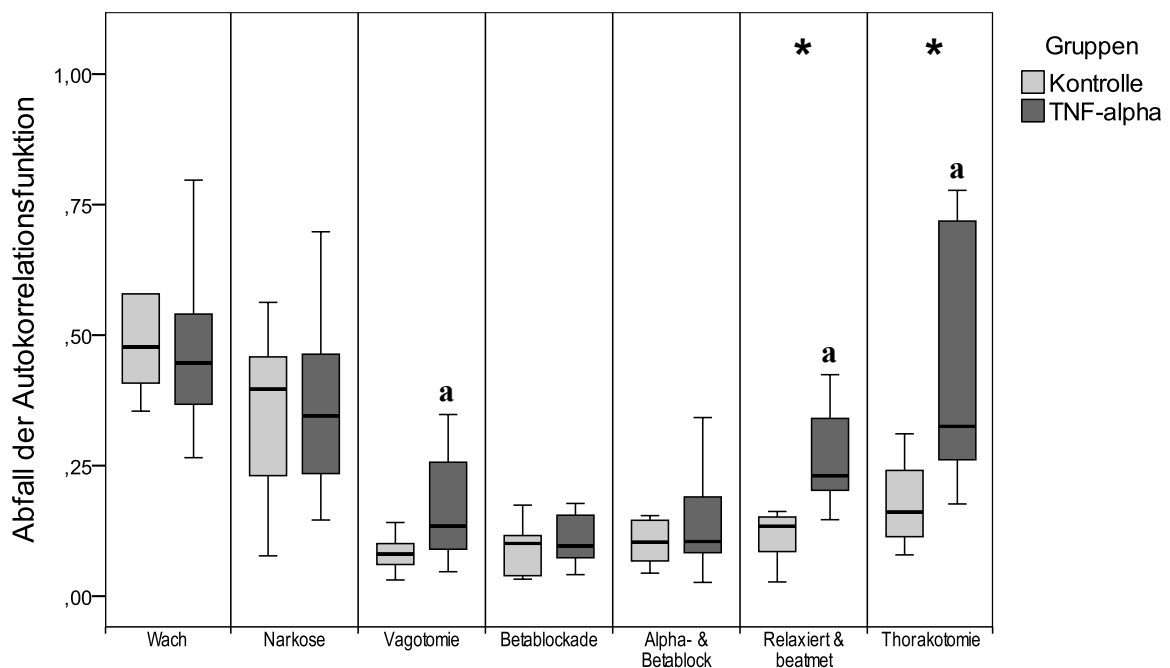


Abbildung 8: Abfall der Autokorrelationsfunktion der Herzschlagfolge bezogen auf den nächsten Atemzug, Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

5.1.9. Zusammenfassung der Beeinflussung linearer Parameter der Herzfrequenzvariabilität

Durch $TNF\alpha$ wurde 12 Stunden nach Applikation des $TNF\alpha$ die mittlere Herzfrequenz verringert. Im Zustand der Muskelrelaxation und maschinellen Beatmung sowie im thorakotomierten Zustand wurde die Autoabhängigkeit der Herzschläge untereinander signifikant vermindert, gleichzeitig verringerte sich in diesen Zuständen in der $TNF\alpha$ -Gruppe die spektrale Leistung.

5.2. Parameter der Blutdruckfluktuationen

5.2.1. Arterieller Mitteldruck

Im Vergleich beider Gruppen war nach Muskelrelaxation und Beginn der maschinellen Beatmung der arterielle Mitteldruck in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 44 % höher als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Tabelle 12).

Der arterielle Mitteldruck war nach α - und β -adrenerger Blockade in der Kontrollgruppe um 40 %, in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 27 % niedriger als bei alleiniger Blockade der β -Rezeptoren ($p < 0,01$). Im Zustand der Relaxation und Beatmung war der arterielle Mitteldruck in beiden Gruppen höher als während der α - und β -Rezeptorblockade. Dieser Unterschied war in der $TNF\alpha$ -Gruppe deutlicher (50 % vs. 23 %) und auch nur in dieser Gruppe signifikant ($p < 0,01$). Die Thorakotomie führte in der $TNF\alpha$ -Gruppe verglichen mit dem Zustand der Relaxation und Beatmung zu einem Abfall des arteriellen Mitteldrucks um 19 % ($p < 0,01$).

*Tabelle 12: Mittleren arterieller Blutdruck (mmHg), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe. Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert und beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	78 (77-79)	72 (71-79)	73 (71-88)	44 (38-49) ^a	54 (50-66)	60 (44-67)
Gruppe 2 ($TNF\alpha$)	77 (67-87)	75 (62-83)	71 (59-84)	52 (43-58) ^a	78 (68-89) ^{a, *}	63 (53-73) ^a

5.2.2. Leistung der Blutdruckfluktuation in den Spektralbändern

Gesamtleistung der Blutdruckfluktuationen

Der Vergleich beider Gruppen ergab eine um 54 % geringere Gesamtleistung der Blutdruckfluktuationen in der $TNF\alpha$ -Gruppe im Zustand der Relaxation und

Beatmung und eine um 94 % geringer Leistung nach der Thorakotomie ($p < 0,05$) (Abbildung 9).

Nach der Vagotomie kam es in der Kontrollgruppe zu einer um das 1,1fache und in der $TNF\alpha$ -Gruppe um das 13,7fache höheren Gesamtleistung der Blutdruckfluktuationen als in Narkose (nur in der $TNF\alpha$ -Gruppe signifikant, $p < 0,01$). Nach der β -Blockade kam in der $TNF\alpha$ -Gruppe zu einem signifikanten Abfall der Gesamtleistung ($p < 0,01$). Die Blockade der α - und β -adrenergen Rezeptoren bewirkte in beiden Gruppen eine Reduktion der Gesamtleistung der BDF (um 65 % in der Kontrollgruppe, um 53 in der $TNF\alpha$ -Gruppe, $p < 0,01$). Im Zustand der Relaxation und Beatmung war nur in der Kontrollgruppe eine signifikant größere Gesamtleistung als während der α - und β -Blockade nachweisbar ($p < 0,01$). Nach der Thorakotomie war nur in der $TNF\alpha$ -Gruppe, nicht aber in der Kontrollgruppe eine signifikant geringere Gesamtleistung als während der Relaxation und Beatmung nachweisbar ($p < 0,01$).

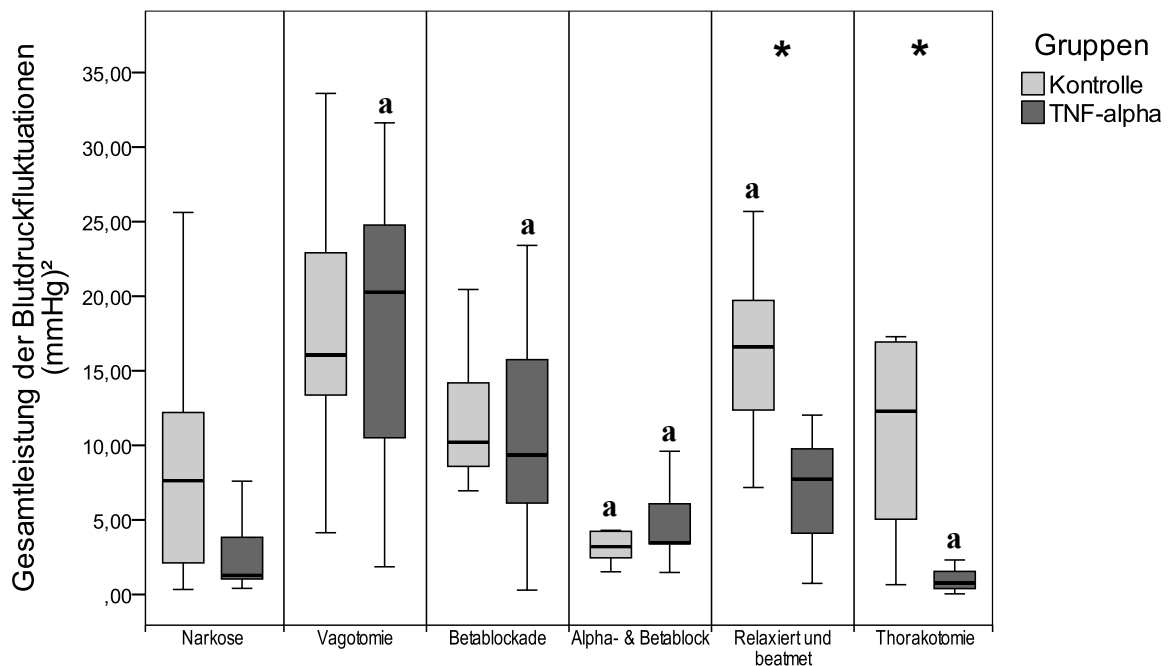


Abbildung 9: Gesamtleistung der Blutdruckfluktuationen (mmHg^2), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,26-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile; jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

Leistung der Blutdruckfluktuationen im HF-Band (0,51-2,5 Hz)

In der $TNF\alpha$ -Gruppe war die Leistung der Blutdruckfluktuationen im HF-Band sowohl im Zustand der Relaxation und Beatmung (um 53 %) als auch im Zustand der Thorakotomie (um 94 %) geringer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Tabelle 13).

Durch Vagotomie kam es in beiden Gruppen zu einem Anstieg der Leistung im HF-Band (um das 1,1fache in der Kontrollgruppe und um das 12fache in der $TNF\alpha$ -Gruppe). Nur in der $TNF\alpha$ -Gruppe war dieser Anstieg statistisch signifikant ($p < 0,01$). Nach zusätzlicher Blockade der β -Rezeptoren war in der $TNF\alpha$ -Gruppe die Leistung signifikant geringer als im vagotomierten Zustand ($p < 0,01$). In der Kontrollgruppe war im Zustand der α - und β -Blockade eine um 65 %, in der $TNF\alpha$ -Gruppe eine um 53 % geringere Leistung zu ermitteln als während alleiniger Blockade der β -Rezeptoren ($p < 0,01$). In der Kontrollgruppe wurde die Leistung im HF-Band durch die nachfolgende Relaxation und maschinelle Beatmung um das 3,6fache gesteigert ($p < 0,01$). In der $TNF\alpha$ -Gruppe war die Leistung im Zustand der Thorakotomie um 91 % geringer als während der Relaxation und Beatmung ($p < 0,01$).

*Tabelle 13: Leistung der Blutdruckfluktuationen ($mmHg^2$) im HF-Band (0,51-2,5 Hz), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe. Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert und beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	7,61 (2,1-12,16)	16,00 (13,34-22,84)	10,16 (8,56-14,12)	3,58 (2,63-4,27) ^a	16,60 (12,37-19,71) ^a	12,28 (3,42-17,28)
Gruppe 2 ($TNF\alpha$)	1,36 (1,01-5,89)	17,59 (9,73-24,63) ^a	9,18 (6,09-15,64) ^a	4,36 (3,34-6,46) ^a	7,72 (4,11-9,76) *	0,70 (0,39-1,4) ^a , *

Leistung der Blutdruckfluktuationen im LF-Band (0,26-0,5 Hz)

Unter dem Einfluss von $TNF\alpha$ war die Leistung im LF-Band im Zustand der α - und β -Blockade um das 2,3fache und nach Relaxation während der maschinellen

Beatmung um das 1,7fache größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Tabelle 14).

In der $TNF\alpha$ -Gruppe war die Leistung der Blutdruckfluktuationen im LF-Band nach der Vagotomie um das 4,6fache größer als in Narkose ($p < 0,01$). In der Kontrollgruppe war die Leistung im LF-Band im Zustand der α - und β -adrenergen Blockade geringer als während alleiniger β -Blockade ($p < 0,01$). Im Zustand der Relaxation und Beatmung war die Leistung in dieser Gruppe nochmals um 84 % geringer als während der α - und β -Blockade ($p < 0,01$).

*Tabelle 14: Leistung der Blutdruckfluktuationen ($mmHg^2$) im LF-Band (0,26-0,5 Hz), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe. Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert und beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	0,0213 (0,0169-0,0384)	0,0577 (0,321-0,664)	0,0411 (0,0319-0,0534)	0,0133 (0,0103-0,318) ^a	0,0021 (0,0014-0,004) ^a	0,0030 (0,0012-0,0049)
Gruppe 2 ($TNF\alpha$)	0,0266 (0,0145-0,0378)	0,1483 (0,0428-0,4185) ^a	0,0606 (0,0359-0,1406)	0,0447 (0,0288-0,079) *	0,0056 (0,0027-0,292)*	0,0034 (0,0016-0,0334)

LF-HF-Quotient der Blutdruckfluktuationen

Durch $TNF\alpha$ wurde der LF-HF-Quotient im Zustand der Narkose um das 3fache sowie im Zustand der Vagotomie um 97 % im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht ($p < 0,05$) (Tabelle 15). Im Zustand der Muskelrelaxation und Beatmung war der LF-HF-Quotient in der $TNF\alpha$ -Gruppe um das 3fache, nach der Thorakotomie um das 53fache größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

Im Zustand der Relaxation und Beatmung war der LF-HF-Quotient in beiden Gruppen niedriger als während der α - und β -adrenergen Blockade. Dieser Unterschied war jedoch nur in der Kontrollgruppe signifikant (Reduktion um 95 %, $p < 0,01$)

*Tabelle 15: LF/HF-Quotient der Blutdruckfluktuationen (Frequenzbereich 0,26-2,5 Hz), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der TNF α -Gruppe. Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der TNF α -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert und beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	0,0035 (0,0033-0,0083)	0,0036 (0,0024-0,0042)	0,0040 (0,0032-0,0045)	0,0037 (0,0025-0,0073)	0,0002 (0,0001-0,0002) ^a	0,0002 (0,0001-0,0009)
Gruppe 2 (TNF α)	0,0139 (0,0068-0,0217) *	0,0071 (0,0051-0,0235) *	0,0060 (0,0034-0,0209)	0,0072 (0,0049-0,0165)	0,0008 (0,0005-0,0098) *	0,0109 (0,0023-0,069) *

5.2.3. Abfall der Autokorrelationsfunktion (ACF) des arteriellen Blutdrucks bezogen auf den nächsten Herzschlag

Der Abfall der Autokorrelationsfunktion war nach kombinierter Blockade der α - und β -adrenergen Rezeptoren in der TNF α -Gruppe um 20 % geringer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Tabelle 16).

Sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der TNF α -Gruppe war der Abfall der ACF nach der Vagotomie um 59 % bzw. 53 % geringer als in Narkose. Dieser Unterschied war jedoch nur in der TNF α -Gruppe statistisch signifikant ($p < 0,01$). Im Zustand der Relaxation und Beatmung sowie im Zustand der Thorakotomie war der Abfall der Autokorrelation in der TNF α -Gruppe jeweils höher (um 53 % bzw. 24 %) als im vorherigen Zustand ($p < 0,01$).

*Tabelle 16: Abfall der Autokorrelationsfunktion des arteriellen Blutdrucks bezogen auf den nächsten Herzschlag (Frequenzbereich 0,51-2,6 Hz), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der TNF α -Gruppe. Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der TNF α -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert & beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	5,09 (3,66-6,19)	2,06 (2,0-2,2)	2,22 (2,0-2,4)	2,40 (2,24-2,7)	3,55 (2,78-3,6)	3,10 (2,93-3,83)
Gruppe 2 (TNF α)	3,93 (3,1-4,64)	1,83 (1,47-2,13) ^a	1,84 (1,57-2,13)	1,91 (1,61-2,21) [*]	2,92 (2,75-3,24) ^a	3,62 (3,18-4,18) ^a

5.2.4. Abfall der Autokorrelationsfunktion (ACF) des arteriellen Blutdrucks bezogen auf den nächsten Atemzug

Im Vergleich beider Gruppen war in der TNF α -Gruppe der Abfall der Autokorrelationsfunktion nach der Thorakotomie um das 2,4fache größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Tabelle 17).

In der TNF α -Gruppe war nach der Vagotomie der Abfall der Autokorrelationsfunktion um 68 % geringer als in Narkose ($p < 0,01$). Sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der TNF α -Gruppe war der Abfall der ACF im Zustand der Relaxation und Beatmung um 86 % bzw. 61 % geringer als während der α - und β -Blockade ($p < 0,01$).

*Tabelle 17: Abfall der Autokorrelationsfunktion des arteriellen Blutdrucks bezogen auf den nächsten Atemzug (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der TNF α -Gruppe). Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der TNF α -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert & beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	0,0442 (0,0271-0,0716)	0,0278 (0,0211-0,0309)	0,0261 (0,0204-0,0354)	0,0392 (0,0367-0,0639)	0,0054 (0,0037-0,0104) ^a	0,0077 (0,0058-0,0092)
Gruppe 2 (TNF α)	0,0780 (0,0542-0,1249)	0,0251 (0,0126-0,064) ^a	0,0184 (0,0122-0,0623)	0,0296 (0,0167-0,0622)	0,0115 (0,0067-0,0138) ^a	0,0262 (0,0149-0,1189) [*]

5.3. Komplexe Parameter von Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen

5.3.1. Abfall der Autotransinformationsfunktion (AMIF) der Herzschlagfolge bezogen auf den nächsten Herzschlag

Im Zustand der Relaxation und Beatmung war der Abfall der Transinformationsfunktion in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 6 % größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Tabelle 18).

In der $TNF\alpha$ -Gruppe war der Abfall der Autotransinformationsfunktion in Narkose signifikant größer als im wachen Zustand ($p < 0,01$). Nach der Vagotomie war in beiden Gruppen (um 6 % in der Kontrollgruppe und um 9 % in der $TNF\alpha$ -Gruppe, jedoch nur in der $TNF\alpha$ -Gruppe statistisch signifikant) ein geringerer Abfall der AMIF als in Narkose feststellbar ($p < 0,01$).

*Tabelle 18: Abfall der Autotransinformationsfunktion (AMIF) der Herzschlagfolge bezogen auf den nächsten Herzschlag (bit), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen $TNF\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Wach	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert & beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	15,40 (15,13-15,69)	14,58 (13,66-15,82)	13,73 (13,54-14,27)	13,76 (13,45-14,00)	14,44 (13,55-14,6)	13,52 (13,15-13,71)	13,67 (13,32-14,5)
Gruppe 2 ($TNF\alpha$)	15,50 (15,19-15,75)	15,76 (15,61-15,98) ^a	14,36 (13,38-14,8) ^a	14,06 (13,69-14,92)	14,16 (13,83-14,87)	14,33 (14,13-14,53) *	13,30 (12,19-14,0)

5.3.2. Abfall der Autotransinformationsfunktion (AMIF) der Herzschlagfolge bezogen auf den nächsten Atemzug

Im Vergleich beider Gruppen war der Abfall der AMIF im Zustand der Relaxation und Beatmung in der $TNF\alpha$ -Gruppe um das 1,5fache und im Zustand der Thorakotomie um das 1,6fache größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Abbildung 10).

In beiden Gruppen kam es vom Wachzustand bis hin zur Vagotomie zu einer deutlichen Abnahme des Abfalls der AMIF (um 60 % in der Kontrollgruppe und um 52 % in der $TNF\alpha$ -Gruppe, jeweils zwischen „Narkose“ und „Vagotomie“). Diese Veränderungen waren jedoch nicht statistisch abzusichern. In der $TNF\alpha$ -Gruppe war der Abfall der Autotransinformationsfunktion im Zustand der Thorakotomie um 31 % größer als während der Relaxation und Beatmung ($p < 0,01$).

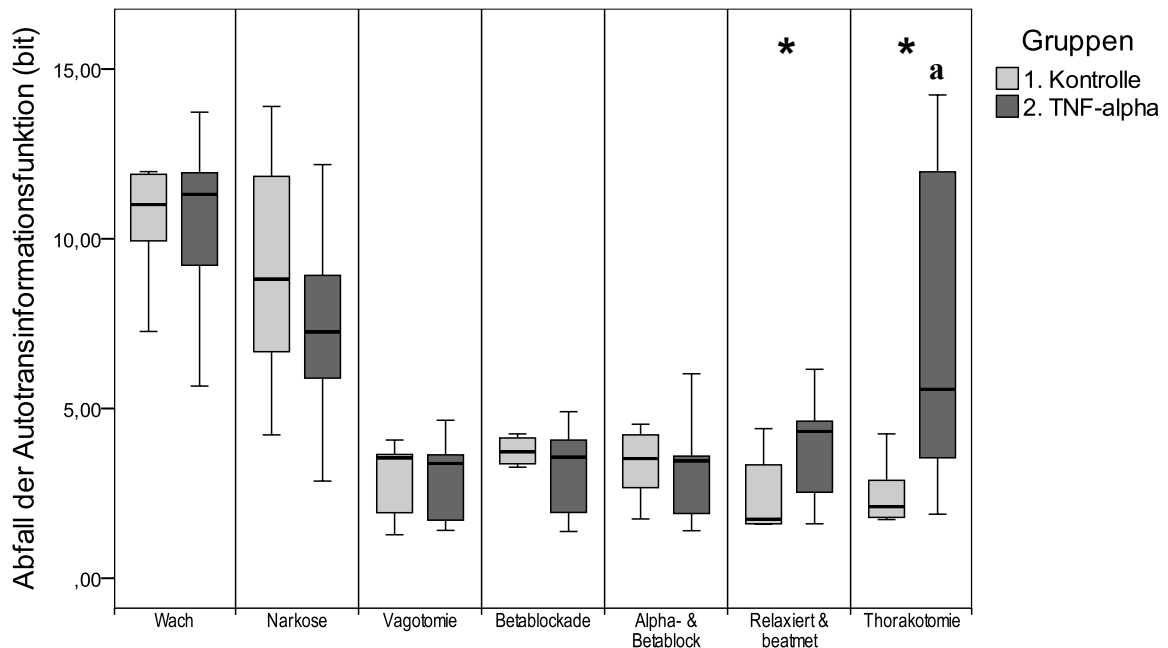


Abbildung 10: Abfall der Autotransinformationsfunktion der Herzschlagfolge bezogen auf den nächsten Atemzug (bit), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

5.3.3. Abfall der Autotransinformationsfunktion (AMIF) der Blutdruckfluktuationen bezogen auf den nächsten Herzschlag

Unter Urethan-Narkose war der Abfall der AMIF bezogen auf den nächsten Herzschlag in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 20 % größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Abbildung 11). Sowohl im Zustand der Muskelrelaxation und Beatmung

als auch nach der Thorakotomie war der Abfall der AMIF in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 26 % bzw. um 67 % größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

In der Kontrollgruppe war der Abfall der Transinformationsfunktion im Zustand der Relaxation und Beatmung um 30 % geringer als im Zustand der α - und β -Blockade ($p < 0,01$). In der $TNF\alpha$ -Gruppe war der Abfall der AMIF im Zustand der Thorakotomie um 31 % größer als im relaxierten und beatmeten Zustand ($p < 0,01$).

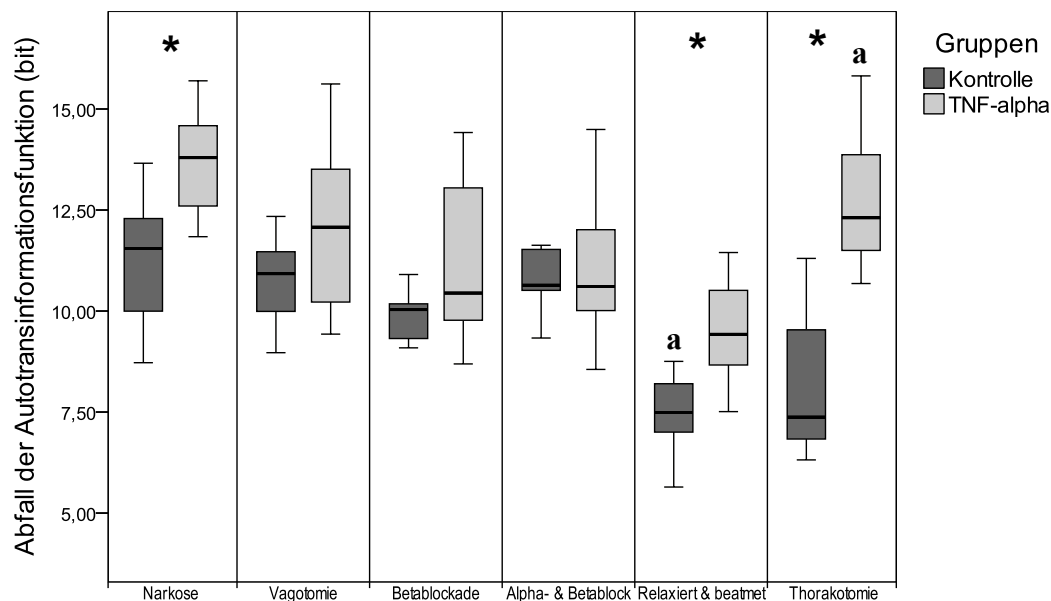


Abbildung 11: Abfall der Autotransinformationsfunktion (AMIF) der Blutdruckfluktuationen bezogen auf den nächsten Herzschlages (bit), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

5.3.4. Abfall der Autotransinformationsfunktion der Blutdruckfluktuationen bezogen auf den nächsten Atemzug

Beim Vergleich beider Gruppen wurde im Zustand der Relaxation und Beatmung in der $TNF\alpha$ -Gruppe ein um 83 % größerer Abfall der AMIF als in der Kontrollgruppe festgestellt ($p < 0,05$).

In beiden Gruppen kam es durch Vagotomie im Vergleich zur Narkose zu einer Verringerung des Abfalls der AMIF um 47 % in der Kontrollgruppe und um 42 % in der $TNF\alpha$ -Gruppe. Dieser Unterschied war jedoch nur in der $TNF\alpha$ -Gruppe statistisch signifikant ($p < 0,01$).

*Tabelle 19: Abfall der Autotransinformationsfunktion bezogen auf den nächsten Atemzug (bit), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). Angabe des Medians (Interquartilenabstand). ^a Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe zum jeweils vorherigen Zustand, * signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen innerhalb eines Zustandes ($p < 0,05$).*

	Narkose	Vagotomie	β -Blockade	α - und β -Blockade	Relaxiert & beatmet	Thorakotomie
Gruppe 1 (Kontrolle)	3,80 (3,03-5,27)	2,01 (1,32-2,59)	2,68 (2,26-2,9)	2,81 (2,77-3,54)	1,02 (0,73-1,56)	1,42 (1,06-2,27)
Gruppe 2 ($TNF\alpha$)	3,65 (2,13-4,76)	2,10 (1,24-2,33) ^a	2,27 (1,66-3,06)	2,39 (1,79-2,89)	1,87 (1,37-2,19) *	1,78 (1,63-2,5)

5.4. Lineare und komplexe Kopplungsparameter

5.4.1. Maximale Kreuzkorrelation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Atembewegungen

Im Zustand der Vagotomie bewirkte $TNF\alpha$ eine Reduktion der maximalen Kreuzkorrelation zwischen Herzfrequenzvariabilität und den Atembewegungen um 13 % ($p < 0,05$) (Abbildung 12). In den folgenden beiden Versuchsabschnitten (β -Blockade, β - und α -Blockade), blieb dieser Unterschied um 11 % bzw. 5 % in geringerer Ausprägung erhalten, war jedoch nicht statistisch signifikant. Im Zustand der Muskelrelaxation und Beatmung war die maximale Kreuzkorrelation in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 9 %, im Zustand der Thorakotomie um 56 % geringer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

Innerhalb der Kontrollgruppe nahm die maximale Kreuzkorrelation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Atembewegungen vom Wachzustand bis hin zur β -Blockade jeweils zu. Jedoch erreichte nur die Zunahme um 7 % zwischen dem Zustand der Vagotomie und dem der β -Blockade statistische Signifikanz ($p < 0,01$). Die zusätzliche Blockade der α -adrenergen Rezeptoren führte zu einer

geringeren maximalen Kreuzkorrelation als alleinige β -Blockade ($p < 0,01$) in den Kontrollgruppe. In der $TNF\alpha$ -Gruppe war die maximale Kreuzkorrelation im Zustand der Thorakotomie um 62 % geringer als im relaxierten und beatmeten Zustand ($p < 0,01$).

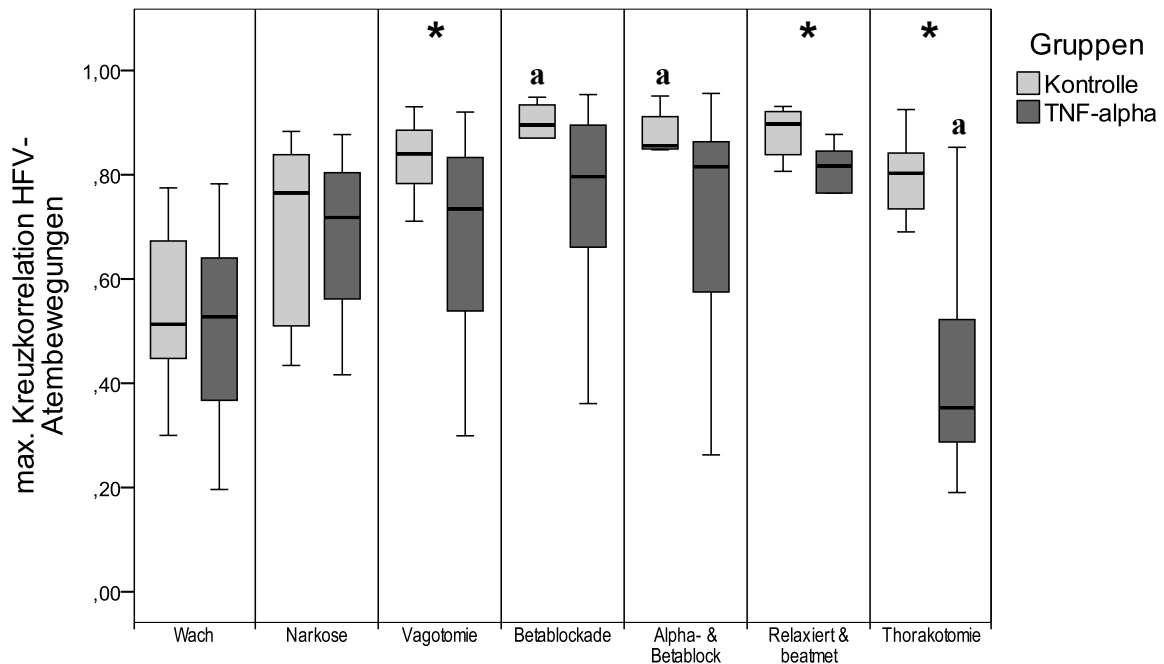


Abbildung 12: Maximale Kreuzkorrelation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Atembewegungen, Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

5.4.2. Maximale Kreuzkorrelation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Blutdruckfluktuationen

Die maximale Kreuzkorrelation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Blutdruckfluktuationen wurde durch $TNF\alpha$ nach Blockade der β -Rezeptoren um 10 % reduziert ($p < 0,05$) (Abbildung 13). Nach zusätzlicher Blockade der α -Rezeptoren war kein Unterschied zwischen beiden Gruppen mehr nachweisbar. Erst im Zustand der Muskelrelaxation und Beatmung war die maximale

Kreuzkorrelation in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe erneut um 9 %, nach der Thorakotomie um 51 % geringer als in der Kontrollgruppe.

Innerhalb der Kontrollgruppe wurden keine signifikanten Unterschiede zum jeweils vorherigen Zustand festgestellt. In der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe war die maximale Kreuzkorrelation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Blutdruckfluktuationen im relaxierten und beatmeten Zustand um 11 % geringer als während der α - und β -Blockade ($p < 0,01$). Nach der Thorakotomie war die maximale Kreuzkorrelation in dieser Gruppe nochmals um 49 % geringer als während der Relaxation und Beatmung ($p < 0,01$).

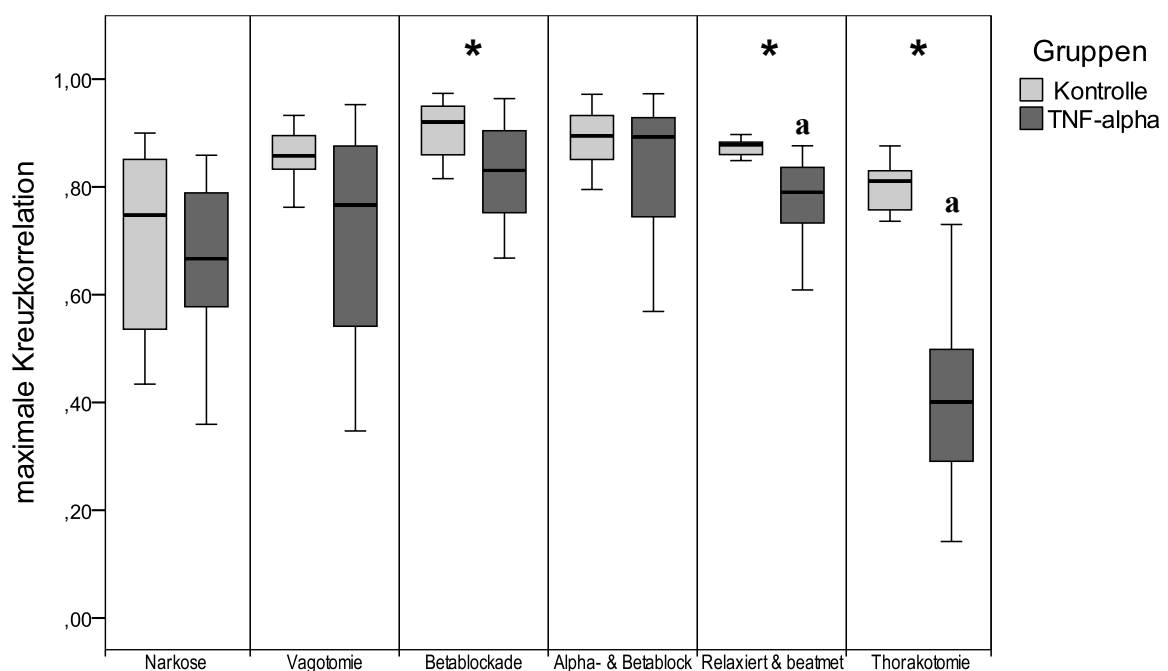


Abbildung 13: Maximale Kreuzkorrelation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Blutdruckfluktuationen, Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

5.4.3. Maximale Kreuzkorrelation zwischen Blutdruckfluktuationen und Atembewegungen

In Narkose und im Zustand der α - und β -Blockade war die maximale Kreuzkorrelation zwischen den Atembewegungen und den Blutdruckfluktuationen

in der $TNF\alpha$ -Gruppe um jeweils 4 %, nach der Thorakotomie um 22 % geringer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Abbildung 14).

In beiden Gruppen kam es im Zustand der Relaxation und Beatmung zu einem Abfall der maximalen Kreuzkorrelation (um 9 % in der Kontrollgruppe und um 5 % in der $TNF\alpha$ -Gruppe) im Vergleich mit der α - und β -adrenergen Blockade. Diese Veränderung war nur in der Kontrollgruppe signifikant ($p < 0,01$). In der $TNF\alpha$ -Gruppe war die maximale Kreuzkorrelation im thorakotomierten Zustand um 31 % geringer als während der Relaxation und Beatmung ($p < 0,01$).

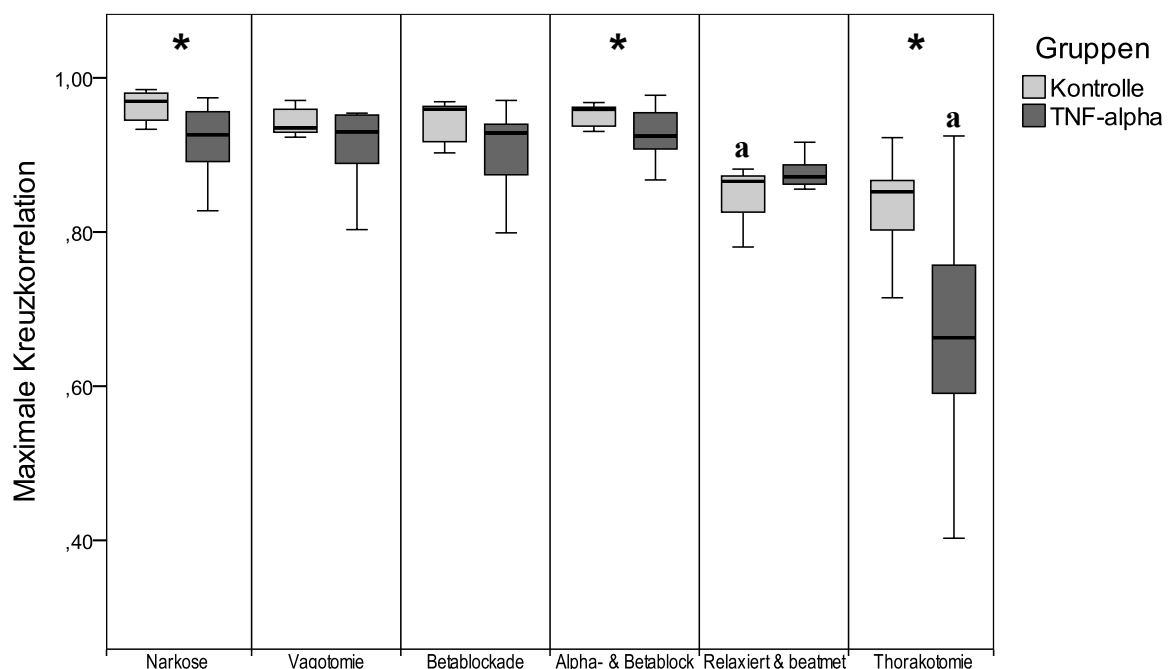


Abbildung 14: Maximale Kreuzkorrelation zwischen Atembewegungen und Blutdruckfluktuationen, Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

5.4.4. Maximale Kreuztransinformation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Atembewegungen

Die maximale Kreuztransinformation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Atembewegungen wurde durch $TNF\alpha$ im Zustand der Muskelrelaxation und

Beatmung um 20 % und im Zustand der Thorakotomie um 74 % im Vergleich mit der Kontrollgruppe vermindert ($p < 0,05$) (Abbildung 15).

In beiden Gruppen kam es über die Versuchsstadien „Wach“ bis „ β -Blockade“ zu einem sukzessiven Anstieg der maximalen Kreuztransinformation, der statistisch jedoch nicht abgesichert werden konnte. In der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe kam es in den letzten beiden Versuchsstadien zu einer Reduktion der maximalen Kreuztransinformation, zwischen den Zuständen „Relaxation und Beatmung“ und „Thorakotomie“ um 72 % ($p < 0,01$).

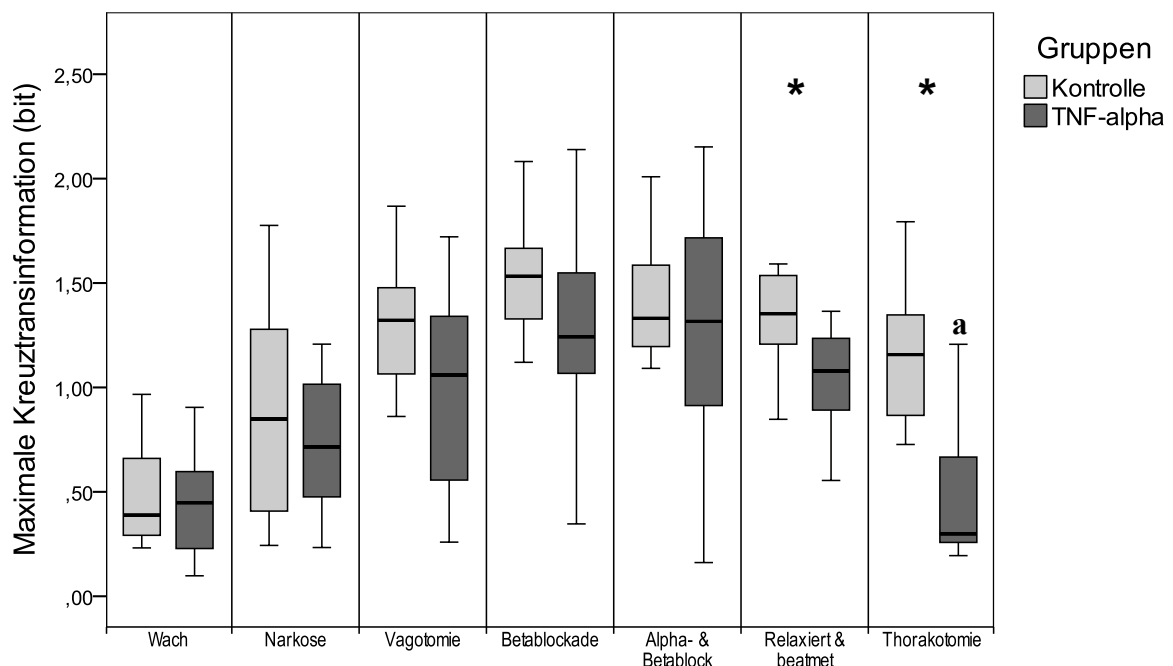


Abbildung 15: Maximale Kreuztransinformation (bit) zwischen der Herzfrequenzvariabilität und den Atembewegungen, Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

5.4.5. Maximale Kreuztransinformation zwischen Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen

Im Zustand der Muskelrelaxation und Beatmung führte $\text{TNF}\alpha$ zu einer um 27 % geringeren maximalen Kreuztransinformation als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$)

(Abbildung 16). Nach der Thorakotomie war die maximale Kreuztransinformation in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 79 % niedriger als in der Kontrollgruppe.

In der $TNF\alpha$ -Gruppe war die maximale Kreuztransinformation im Zustand der Thorakotomie um 69 % geringer als im Zustand der Relaxation und Beatmung ($p < 0,01$). In der Kontrollgruppe wurden keine signifikanten Unterschiede der maximalen Kreuztransinformation beim Vergleich der einzelnen Zustände mit dem jeweils vorangehenden Zustand festgestellt.

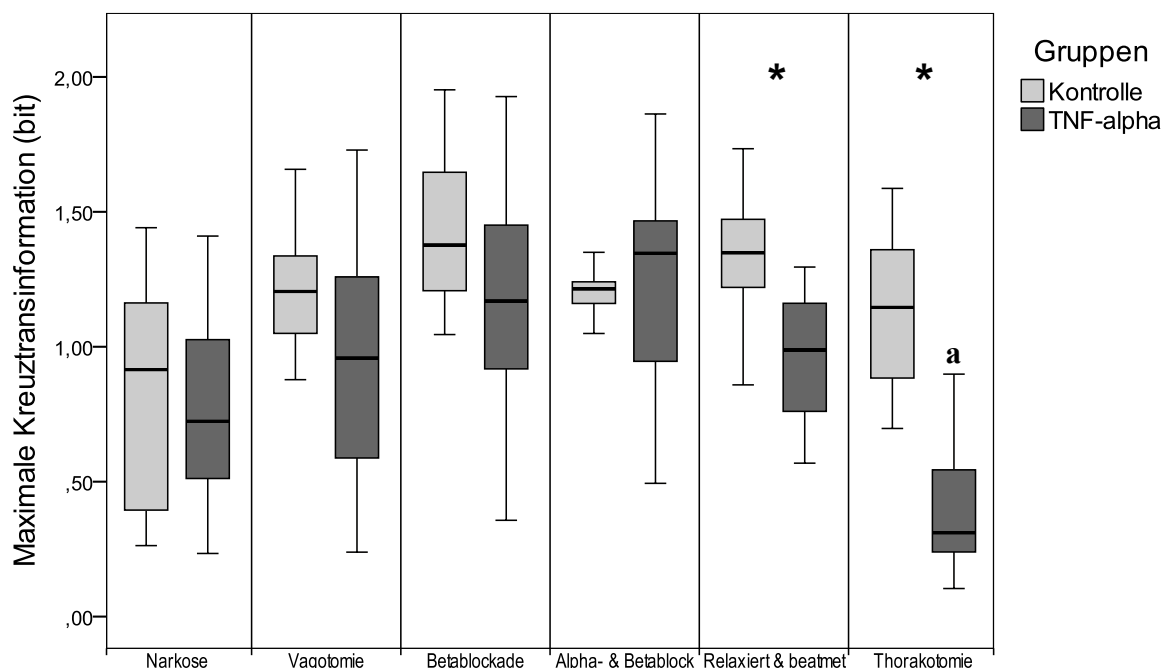


Abbildung 16: Maximale Kreuztransinformation zwischen Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen (bit), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $TNF\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $TNF\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

5.4.6. Maximale Kreuztransinformation zwischen Atembewegungen und Blutdruckfluktuationen

Im Zustand der Narkose war die maximale Kreuztransinformation zwischen den Atembewegungen und Blutdruckfluktuationen in der $TNF\alpha$ -Gruppe um 29 %, im Zustand der Vagotomie um 9 % geringer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$)

(Abbildung 17). Nach der Blockade β -adrenerger Rezeptoren war dieser Unterschied nicht mehr nachweisbar. Im Zustand der Muskelrelaxation und Beatmung sowie nach der Thorakotomie war die maximale Kreuztransinformation in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe wieder um 14 % bzw. 34 % niedriger als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

In beiden Gruppen war die maximale Kreuztransinformation zwischen Atembewegungen und Blutdruckfluktuationen im Zustand der Relaxation und Beatmung größer (um 35 % in der Kontrollgruppe und um 18 % in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe) als während der α - und β -Blockade. Dieser Unterschied war nur in der Kontrollgruppe statistisch signifikant ($p < 0,01$). In der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe führte die Thorakotomie zu einer um 65 % geringeren maximalen Kreuztransinformation als während der Relaxation und Beatmung ($p < 0,01$).

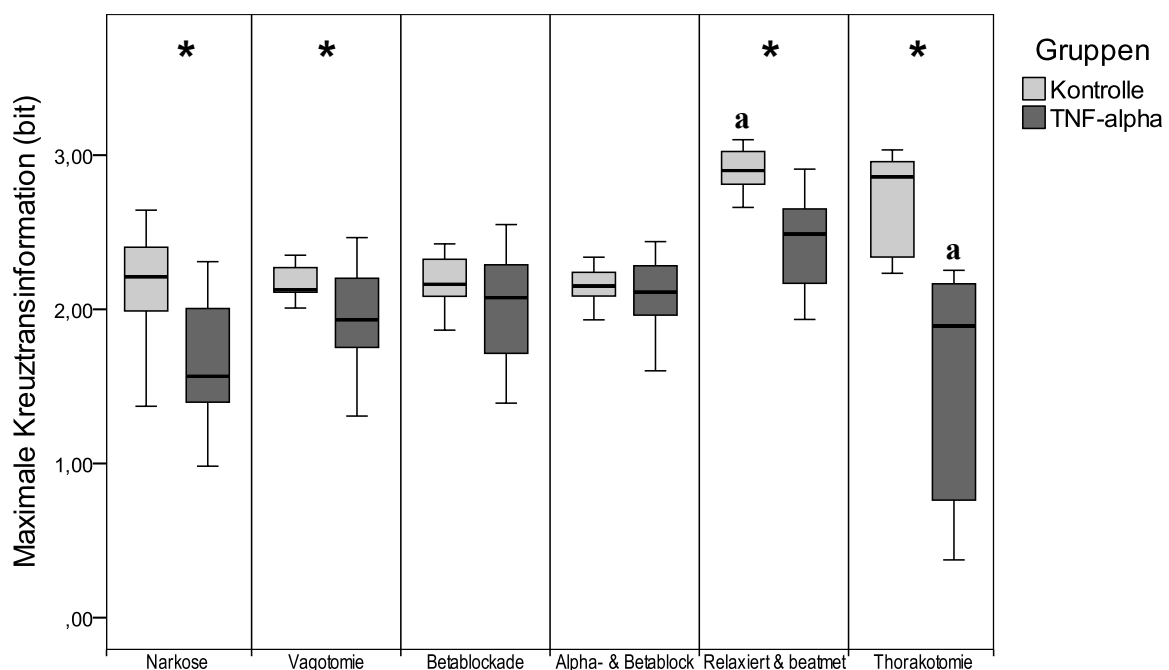


Abbildung 17: Maximalen Kreuztransinformation zwischen Atembewegungen und Blutdruckfluktuationen (bit), Vergleich zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und denen der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe (Frequenzbereich 0,51-2,5 Hz). (Boxplot-Darstellung: Median (schwarzer Querbalken innerhalb der jeweiligen Säule); Angabe der 25. und 75. Perzentile: jeweils obere bzw. untere Begrenzungen der Säulen; * signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ zwischen den untersuchten Versuchsgruppen, ^a innerhalb der Kontroll- bzw. der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe jeweils zum vorherigen Zustand, $p < 0,01$).

6. Diskussion

6.1. Methodendiskussion

Da die Ratte eine dem Menschen ähnliche kardiorespiratorische Koordination (Larsen und Galletly 1999) sowie eine vergleichbare vasomotorische Steuerung und Gefäßrhythmik (Rizzoni et al. 1995) aufweist, ist sie als Tiermodell für die durchgeführten Untersuchungen gut geeignet. Bei der Interpretation der Ergebnisse und deren Übertragbarkeit auf den Menschen ist allerdings zu beachten, dass die Ratte unter einem stärkeren sympathischen Einfluss als der Mensch steht.

Ratten sind zudem nachtaktive Tiere. Sie zeigen also einen reziproken Tag-Nacht-Rhythmus im Vergleich zum Menschen. Auch dies ist bei der Auswertung zu berücksichtigen. Bei Ratten ist die Herzfrequenz während der Tagphase niedriger als nachts. Die spektrale Leistung ist sowohl im LF- als auch im HF-Bereich tags höher als nachts (Hashimoto et al. 1999).

Die im Rahmen der vorliegenden Untersuchung verabreichte $\text{TNF}\alpha$ -Dosis war im Vergleich zu der von anderen Arbeitsgruppen benutzten eher gering. In einer von Tabrizchi und Mitarbeitern veröffentlichten Arbeit wurden $30 \mu\text{g/kg}$ $\text{TNF}\alpha$ appliziert (Tabrizchi 2001a); Saigusa arbeitete mit $10 \mu\text{g/kg}$ (Saigusa 1990). Die tödliche Dosis liegt bei Ratten bei etwa $40 \mu\text{g/kg}$ (Scheringa et al. 1989) bei Applikation als intravenöser Bolus. Goto und Mitarbeiter arbeiteten bei ihren Versuchen mit $8 \mu\text{g/kg}$ $\text{TNF}\alpha$ (Goto et al. 2001). Der $\text{TNF}\alpha$ -Spiegel im Blut lag eine Minute nach der Applikation bei $178,0 \pm 33,1 \text{ ng/ml}$. Beno und Kimuro maßen nach Applikation von 2 mg/kg Endotoxin bei Ratten einen $\text{TNF}\alpha$ -Spiegel von $111,8 \pm 6,5 \text{ ng/ml}$ (Beno und Kimura 1999). Mit den im vorliegenden Versuch verwendeten Dosierungen war ebenfalls beabsichtigt sich in einem Konzentrationsbereich zu bewegen, der auch durch die körpereigene $\text{TNF}\alpha$ -Produktion im Rahmen einer schweren Entzündungsreaktion bzw. Sepsis oder aber auch anderer Erkrankungen, bei denen $\text{TNF}\alpha$ pathophysiologisch eine Rolle spielt, erzeugt werden kann. Auf diese Weise sollten die Effekte des $\text{TNF}\alpha$ auf die Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen sowie deren Kopplungen bei Sepsis und anderen Erkrankungen untersucht werden.

Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass der nach intravenöser Applikation von Endotoxin zunächst erhöhte $\text{TNF}\alpha$ -Spiegel im Serum innerhalb von 4 Stunden wieder auf das Niveau der Ausgangswerte abfällt (Xuan et al. 2001). Wird $\text{TNF}\alpha$ selbst als intravenöser Bolus appliziert, kehren die Blutspiegel nach 120 Minuten wieder auf ihren Ausgangswert zurück (Goto et al. 2001). Man kann also davon ausgehen, dass das intraperitoneal applizierte $\text{TNF}\alpha$ zum Zeitpunkt der Datenerhebung bereits metabolisiert bzw. eliminiert war. $\text{TNF}\alpha$ stimuliert jedoch die Freisetzung einer Reihe weiterer Entzündungsmediatoren (IL-1, IL-6 und auch $\text{TNF}\alpha$ selbst) und andere Stoffe wie Fettsäurederivate (z.B. Eicosanoide) und reaktive Sauerstoffspezies, so dass die beobachteten Veränderungen nicht ausschließlich von $\text{TNF}\alpha$ selbst, sondern zu einem großen Anteil von seinen Folgemediators hervorgerufen worden sind (s. S. 18f). Wenn hier also von $\text{TNF}\alpha$ -vermittelten Prozessen die Rede ist, so sind außer den direkten Wirkungen dieses Zytokins immer auch Wirkungen der Folgemediators gemeint, deren komplexe Wirkung durch den Versuchsablauf erfasst werden konnte.

Sowohl bei der initialen Narkose mit Isofluran zum Implantieren der Elektroden als auch bei der Urethan-Narkose wurden die Kriterien von Paddelford und Erhardt eingehalten (Paddelford und Erhardt 1992).

Urethan ist ein gut untersuchtes und bei tierexperimentellen Studien bewährtes Anästhetikum. Urethan hat nur geringe Effekte auf das kardiovaskuläre System und die Atmung (Hara und Harris 2002, Faber 1989). Daher war es für die durchgeführten Versuche geeignet. Seine anästhetische Wirkung wird durch Hemmung von NMDA- und AMPA-Rezeptoren und durch Steigerung der Wirkung an GABA-, Glycin- und neuronalen nikotinergen ACh-Rezeptoren vermittelt (Hara und Harris 2002). Durch die Beeinflussung der ACh-Rezeptoren sind Modifikationen der Aktivität des vegetativen Nervensystems denkbar. Da diese Rezeptoren jedoch an präganglionären Neuronen beider Anteile des vegetativen Nervensystems vorkommen, werden sowohl Parasympathikus als auch Sympathikus gleichermaßen beeinflusst.

In Narkose ist die zentrale Regulation der Körpertemperatur beeinträchtigt. Daher wurde die Körpertemperatur der Versuchstiere während des gesamten Versuches überwacht. Bei Neigung zur Hypothermie wurde mit einer Infrarot-A-Lampe von außen Wärme zugeführt. Da die Körpertemperatur einen Einfluss auf die untersuchten Parameter der Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen

hat, sollten Schwankungen der Körpertemperatur möglichst vermieden werden. In der vorliegenden Untersuchung lag die Körpertemperatur zu Versuchsbeginn (insbesondere während der Ableitung „Narkose“) bei einigen Tieren unterhalb des Normbereiches, zu Versuchsende (Ableitung „Thorakotomie“) wurden z.T. leicht erhöhte Werte gemessen. Bei kurzzeitiger Hyperthermie durch Infrarot-A-Bestrahlung fanden Michaelsen und Mitarbeiter neben der Zunahme der Herzfrequenz und der Reduktion des arteriellen Blutdruckes auch eine Reduktion der spektralen Leistung der Herzfrequenzvariabilität im HF-Bereich sowie eine Vergrößerung des LF-HF-Quotienten (Michaelsen et al. 1999).

TNF α und seine Folgemediatoren sind in der Lage, sowohl Hypo- als auch Hyperthermie zu erzeugen (Nakamura et al. 1988, Leon et al. 1998). Ob die gemessenen Abweichungen (in beide Richtungen) von der normalen Körpertemperatur jedoch Folge der TNF α -Einwirkung oder Folge äußerer Einwirkung war, lässt sich nicht eruieren.

Beim Legen des arteriellen Katheters in die A. carotis kann es zu einer Verletzung des N. vagus, z.B. durch Zugkräfte, kommen. Während dieser Präparation wurde daher auch die Herzfrequenz beobachtet, um den Nerven möglichst zu schonen.

Zur parasympathischen Blockade wurde die beidseitige Vagotomie gewählt, um die lokalen cholinergen Einflüsse am Herzen intakt zu belassen. Durch eine generalisierte parasympathische Blockade mit Atropin wären diese ebenfalls funktionslos gewesen. Diese lokalen und über andere Wege als die Rr. cardiaci des N. vagus wirkenden acetylcholinergen Mechanismen sind jedoch möglicherweise an der Vermittlung lokaler Effekte am Herzen in späteren Versuchsstadien beteiligt und sollten daher intakt bleiben. Nach der Durchführung der Vagotomie wurde zwei Minuten vor dem Beginn der nächsten Aufzeichnung von Herzfrequenz, Atmung und Blutdruck abgewartet. In früheren Versuchen war beobachtet worden, dass die Herzfrequenz erst innerhalb dieses Zeitraumes ihr endgültiges Niveau erreicht. Ein Trend im Zeitverlauf der Herzfrequenz würde eine größere Herzfrequenzvariabilität vortäuschen.

Da durch die beidseitige Vagotomie auch der Hering-Breuer-Reflex unterbrochen wurde, kam es zu einer tieferen und langsameren Atmung. Gleichzeitig wird die Vermittlung der respiratorischen Sinusarrhythmie beeinträchtigt. Hierdurch ist möglicherweise eine Reduktion der Herzfrequenzvariabilität zu erwarten. Es

konnte gezeigt werden, dass es nach Vagotomie zu einer gesteigerten linearen respiro-kardialen Kopplung kommt, die über die Interaktion der atmungs- und herzfrequenzsteuernden Hirnstammneurone vermittelt ist (Hardraht 2003).

Die Anwendung von Metoprolol ist eine zuverlässige, gut untersuchte und im Tierexperiment häufig angewandte Methode zur selektiven β_1 -Blockade (Johansson 1979). Auch Urapidil ist gut untersucht und wird seit langem auch im Tierversuch zur α_1 -Blockade eingesetzt (Bousquet et al. 1983, Verberne und Rand 1984). Nach der Applikation dieser Pharmaka wurde jeweils 2 Minuten gewartet bis zum Beginn der Datenaufzeichnung. Nach optischer Kontrolle auf dem Monitor waren nach diesem Zeitraum keine Veränderungen der Herzfrequenz und des Blutdrucks im Sinne eines längerfristigen Trends mehr zu erkennen. Zur Berechnung der Parameter am Computer wurde darauf geachtet, dass ein Intervall ohne längerfristige Trends ausgewählt wurde.

Auch die Muskelrelaxation mit Pancuronium ist ein bewährtes und vielfach erprobtes Vorgehen. Im klinischen und insbesondere intensivmedizinischen Alltag wird die Relaxation jedoch nur noch selten angewandt. In der Versuchsanordnung war sie jedoch notwendig, um eine rein mechanische Beatmung zu realisieren.

Als Beatmungsform wurde ausstattungsbedingt eine volumenkontrollierte Beatmung gewählt. Hierbei kann es grundsätzlich zu variierenden Atemwegsdrücken kommen. Da jedoch das intrathorakale Volumen und die atemabhängige Volumenänderung die entscheidende Größe für die mechanische Beeinflussung von Herzfrequenzvariabilität und Blutdruckfluktuationen ist, wurde diese Beatmungsform der klinisch verbreiteteren druckkontrollierten Beatmung vorgezogen. Die während der volumenkontrollierten Atmung auftretenden wechselnden Atemwegsdrücke wurden von uns nicht bestimmt.

Die Qualität der Spontanatmung bzw. der kontrollierten Beatmung wurde nur zwei Mal während des Versuchsablaufes überprüft. Grundsätzlich wäre eine häufigere Blutgasanalyse sinnvoll gewesen, dies war jedoch aufgrund des geringen Blutvolumens der Ratte und der vorhandenen technischen Ausstattung nicht möglich. Zwei Tiere, bei denen sich in der letzten BGA nach der Thorakotomie eine massive respiratorische Azidose gezeigt hatte, wurden von der Auswertung ausgeschlossen.

Zur Auswertung der Leistungsspektralanalyse wurden die von Aubert und Troncoso angegebenen Frequenzbänder modifiziert, so dass die respiratorische

Sinusarrhythmie auch in Narkose und nach erfolgter Vagotomie im HF-Band erfasst wurde (Aubert et al. 1999, Troncoso et al. 1995).

Zur Analyse der nicht-linearen Anteile von HFV und BDF wurden Parameter der Transinformation gewählt, da auf diese Weise die gesamte Komplexität einer Zeitreihe erfasst werden kann (Hoyer et al. 1996, Hoyer et al. 1997, Pompe et al. 1998, Hoyer et al. 2005).

6.2. Ergebnisdiskussion

6.2.1. Parameter der Herzfrequenzvariabilität

12 Stunden nach Applikation des $\text{TNF}\alpha$ wurde nach Einleitung der Urethan-Narkose eine Reduktion der Herzfrequenz festgestellt, die bis zum Zustand der Muskelrelaxation und maschinellen Beatmung nachweisbar war. In der Literatur wird hingegen überwiegend entweder eine Tachykardie als Reaktion auf $\text{TNF}\alpha$ oder jedoch gar keine Veränderung der Herzfrequenz beschrieben. Allerdings wurden in diesen Versuchen höhere Dosen und ein kürzeres Beobachtungsintervall gewählt. Im Tierversuch an Ratten und Hunden bewirkte $\text{TNF}\alpha$ (8,2 bzw. 10 $\mu\text{g/kg}$ i.v.) eine Steigerung der Herzfrequenz (Xie et al. 1997, Nakatsuji et al. 1990) mit einem Maximum nach 5 bis 7 Stunden. Morimoto und Mitarbeiter stellten ebenso wie Tabrizchi nach der Applikation von $\text{TNF}\alpha$ (1, 10 oder 50 $\mu\text{g/kg}$ bei Morimoto et al., 30 $\mu\text{g/kg}$ bei Tabrizchi) bei Ratten keine Änderung der Herzfrequenz innerhalb eines Beobachtungszeitraumes von 5 Stunden fest (Morimoto et al. 1992, Tabrizchi 2001a). Turner und Mitarbeiter fanden eine dosisabhängige Tachykardie 30 Minuten nach $\text{TNF}\alpha$ -Gabe (Dosisbereich: 0,3 – 10 $\mu\text{g/kg}$) (Turner et al. 1989). Intracerebroventrikular appliziertes $\text{TNF}\alpha$ verursachte bei Ratten eine dosisabhängige Bradykardie (Mollace et al. 2001). Einen ähnlichen Effekt wie in der vorliegenden Untersuchung fanden van Lanschot und Mitarbeiter, nämlich eine Bradykardie bei narkotisierten Hunden während kontinuierlicher Infusion von $\text{TNF}\alpha$ über 6 Stunden (van Lanschot et al. 1990).

In der vorliegenden Untersuchung war der Zeitraum von der Applikation des $\text{TNF}\alpha$ bis zum Beginn der Datenaufzeichnung nach 12 Stunden deutlich länger als bei den oben erwähnten Studien. Zudem waren die eingesetzten Dosierungen vergleichsweise gering (s.a. Methodendiskussion). Offensichtlich bewirkt $\text{TNF}\alpha$ selbst dosisabhängig eine Tachykardie (Turner et al. 1989). Mehrere Stunden nach der Applikation von $\text{TNF}\alpha$ *kann* eine Tachykardie auftreten, die dann am ehesten durch die in der Folge freigesetzten anderen Entzündungsmediatoren bedingt ist. Nach noch längerer Latenz ist eine Wirkung auf dem Weg der Veränderung der Genexpression (z.B. Veränderung der Rezeptordichte auf

Zelloberflächen) wahrscheinlich. Die Reduktion der Herzfrequenz durch die längerfristigen Auswirkungen der $\text{TNF}\alpha$ -Applikation im narkotisierten Zustand kann jedoch auch durch den erhöhten vagalen Tonus infolge Aktivierung des „cholinergen antiinflammatorischen Reflexes“ (Tracey 2002) erklärt werden, da eine erhöhte parasympathische Aktivität die Herzfrequenz senkt. Der cholinerge antiinflammatorische Reflex kann durch Zytokine, also auch durch $\text{TNF}\alpha$, ausgelöst werden. Kommt es z.B. im Rahmen einer Entzündung zur Zytokinausschüttung, wird dies afferent über den N. vagus zum Hirnstamm geleitet. In der Folge kommt es zu einer Steigerung der parasympathischen Aktivität, die über vagale Efferenzen zu einer Hemmung der Zytokinausschüttung und somit zu einer Begrenzung der Entzündungsreaktion führt. Jedoch blieb die Bradykardie in unseren Versuchen auch nach der Vagotomie und über alle autonomen Blockaden hinweg bestehen, so dass eine Veränderung der sympathisch-parasympathischen Balance als Erklärung allein nicht ausreicht. Als weiterer Mechanismus ist ein direkter Angriff des $\text{TNF}\alpha$ und der in der Folge freigesetzten Entzündungsmediatoren am Sinusknoten wahrscheinlich. Hierbei kommen mehrere Wirkmechanismen in Betracht: Li und Mitarbeiter fanden in Kardiomyozyten eine Steigerung des freien intrazellulären Calciums sowie eine Hemmung des langsamen Calciumeinstroms $i(\text{Ca}_L)$ durch $\text{TNF}\alpha$ (Li et al. 2003). Es ist schon lange bekannt, dass am Sinusknoten eine Hemmung des $i(\text{Ca}_L)$ zu einer Verzögerung der Depolarisation und somit zu einer Reduktion der Herzfrequenz führt. Zur Wirkung von Zytokinen an Sinusknotenzellen gibt es bisher jedoch keine Studien. Nimmt man aber an, dass $\text{TNF}\alpha$ und IL-1 auch an Sinusknotenzellen eine Hemmung des $i(\text{Ca}_L)$ bewirken, würde dies den negativ chronotropen Effekt erklären. Diese Wirkung des $\text{TNF}\alpha$ wurde jedoch bisher nur für Kardiomyozyten nachgewiesen. 1989 beschrieben Gulick und Mitarbeiter, dass $\text{TNF}\alpha$ (und IL-1) die Ansprechbarkeit von Kardiomyozyten auf β -adrenerge Aktivität vermindert (Gulick et al. 1989). Eine solche Wirkung würde an Sinusknotenzellen ebenfalls zu einem verminderten sympathischen Einfluss und somit zu einer Reduktion der Herzfrequenz führen. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung deuten darauf hin, dass Zytokineffekte, die bisher an Kardiomyozyten nachgewiesen wurden, möglicherweise auch im Bereich der rhythmusgenerierenden Zellen des Herzens wirksam werden. Untersuchungen zur

Wirkung des $\text{TNF}\alpha$ an Schrittmacherzellen in vitro gibt es bisher nicht. Zur Bestätigung dieser Vermutungen sind also weitere in-vitro Versuche notwendig.

Für *Endotoxin* liegen erste Hinweise einer Wirkung auf rhythmusgenerierende Zellen des Herzens bereits vor. Zorn-Pauly und Mitarbeiter konnten zeigen, dass Endotoxin zu einer Beeinträchtigung des Schrittmacherstroms $i(F)$ an isolierten menschlichen Herzvorhofzellen führt (Zorn-Pauly et al. 2007). Eine solche Reaktion auf Endotoxin kann eine eingeschränkte Reaktionsfähigkeit der reizleitenden Strukturen am Herzen auf autonome Einflüsse bewirken und so zu einer verminderten Herzfrequenz führen. Um herauszufinden, ob auch $\text{TNF}\alpha$ eine derartige Wirkung auf reizgenerierende und –leitende Zellen hat, sind weitere Studien notwendig.

Ein signifikanter Einfluss des $\text{TNF}\alpha$ auf lineare und komplexe Herzfrequenzvariabilitätsparameter war erst nach Einleitung der Urethannarkose feststellbar. In der Kontrollgruppe war in Narkose insbesondere der lineare Anteil der Herzfrequenzvariabilität, der in den einfachen Streumaßen und den Parametern der Leistungsspektralanalyse wiedergegeben ist, im Vergleich zum Wachzustand deutlich reduziert. In der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe trat diese Reduktion der Variabilität durch Narkose nicht auf. Im Zustand der Narkose war die lineare Herzfrequenzvariabilität in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe dann auch signifikant größer als in der Kontrollgruppe. Nach der Vagotomie war kein signifikanter Unterschied in der Variabilität zwischen beiden Gruppen mehr feststellbar. Die Reduktion der HFV durch Narkose (verschiedene Anästhetika) wurde bereits häufig beschrieben (Pichot et al. 2001, Storella et al. 1995, Latson et al. 1992, Maenpaa et al. 2011). Überraschend ist, dass diese Reduktion bei den Tieren, die $\text{TNF}\alpha$ erhielten, ausblieb. Eine mögliche Ursache ist wiederum die Aktivierung des cholinergen antiinflammatorischen Reflexes (Borovikova et al. 2000, Tracey 2002) im Rahmen der artifiziell herbeigeführten Entzündungsreaktion. Hierdurch kommt es zu einer gesteigerten vagalen Aktivität (Huang et al. 2010), welche die von uns nachgewiesene Reduktion der Herzfrequenz und die gesteigerte Herzfrequenzvariabilität hervorrufen kann. McLachlan und Mitarbeiter stellten 2010 dar, dass gesunde Probanden mit Sinusbradykardie einen erhöhten Vagotonus haben, der sich in gesteigerter Herzfrequenzvariabilität niederschlägt. Da das von uns verwandte Anästhetikum Urethan die Wirkung an neuronalen

nikotinergeren ACh-Rezeptoren verstärkt (Hara und Harris 2002), trägt es möglicherweise bei gesteigertem Vagotonus zusätzlich zu der im Vergleich zur Kontrollgruppe gesteigerten HFV bei.

Bezogen auf Parameter der Herzfrequenzvariabilität spiegelt sich die vagale Aktivität im HF-Bereich des Leistungsspektrums wider (Akselrod et al. 1985). Beckers und Mitarbeiter konnten zeigen, dass durch Vagotomie nichtlineare Anteile der HFV reduziert werden (Beckers et al. 2006). Umgekehrt führt eine Steigerung der parasympathischen Aktivität zu einem Anstieg der HFV. Nobrega und Mitarbeiter stellten bei gesunden Probanden einen Anstieg der SDNN und pnn50 (Prozentsatz der NN-Intervalle mit mindestens 50 ms Abweichung vom vorausgehenden NN-Intervall) durch cholinerge Stimulation mit Pyridostigmin fest (Nobrega et al. 2001). Die in der vorliegenden Untersuchung festgestellte gesteigerte Herzfrequenzvariabilität, insbesondere auch im HF-Band (s. Tabelle 9), vor Vagotomie in der $TNF\alpha$ -Gruppe deutet auf eine Aktivierung des „inflammatorischen Reflexes“ durch das experimentell zugeführte $TNF\alpha$ und seine Folgemediatoren hin.

Während der nachfolgenden Blockaden des Sympathikus waren keine signifikanten Unterschiede in der HFV zwischen der Kontrollgruppe und der $TNF\alpha$ -Gruppe nachweisbar. Sympathische Aktivität scheint also bei der Vermittlung der $TNF\alpha$ -Wirkung auf die Herzfrequenzvariabilität nur eine untergeordnete Rolle zu spielen bzw. $TNF\alpha$ wirkt nicht oder wenig auf diesen Zweig des vegetativen Nervensystems ein.

Nach kompletter autonomer Blockade wurde ab dem Beginn der künstlichen Beatmung in der $TNF\alpha$ -Gruppe eine reduzierte Gesamtleistung der Herzfrequenzvariabilität bei gleichzeitig gesteigerter Komplexität und verminderter Autoabhängigkeit der Herzschläge untereinander gefunden. Dieses etwas widersprüchliche Ergebnis ist überraschend, da man bei einer Reduktion der Gesamtleistung grundsätzlich eine größere Autoabhängigkeit und verminderte Komplexität erwartet hätte. Bisher wurde in der Literatur bei bestimmten Erkrankungen, darunter auch Sepsis und chronische Herzinsuffizienz, allgemein eine verminderte Herzfrequenzvariabilität beschrieben. Malave und Mitarbeiter fanden eine negative Korrelation zwischen der Herzfrequenzvariabilität und dem bei Herzinsuffizienz in erhöhten Spiegel messbaren $TNF\alpha$ (Malave et al. 2003). Die Arbeitsgruppe um Godin wies bereits 1996 eine Reduktion der

Herzfrequenzvariabilität bei experimenteller Endotoxinämie beim Menschen nach (Godin et al. 1996). Ahmad und Mitarbeiter konnten bei knochenmarktransplantierten Patienten, die eine Sepsis entwickelten, mehr als 24 Stunden vor Beginn der klinischen Symptomatik eine Reduktion der linearen und komplexen Herzfrequenzvariabilität feststellen (Ahmad et al. 2009). Andererseits wurde von Bruyne und Mitarbeitern dargelegt, dass sowohl gesteigerte als auch verminderte Herzfrequenzvariabilität ein Prädiktor für ein kardiales Ereignis ist (de Bruyne et al. 1999). Allerdings wurden von Bruyne und Mitarbeitern nur sehr kurze EKG-Sequenzen auf ihre Variabilität hin untersucht, so dass die Vergleichbarkeit mit der vorliegenden Untersuchung eingeschränkt ist. Man kann daher vermuten, dass die festgestellte verminderte Autoabhängigkeit und gesteigerte Komplexität Zeichen einer gestörten Regulation der Herzfrequenz ist.

In den Versuchsabschnitten, in welchen eine gesteigerte Komplexität und geringere Autoabhängigkeit der Herzschläge voneinander festgestellt wurde, fand sich außerdem auch eine gestörte Kopplung der Organsysteme nach Applikation von $\text{TNF}\alpha$. Es ist also anzunehmen, dass die gesteigerte Komplexität in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe Zeichen der größeren Unabhängigkeit der Herzfrequenzsteuerung von anderen Organsystemen ist. Zusätzlich ist es denkbar, dass $\text{TNF}\alpha$ durch Einwirkung auf lokale Regulationsmechanismen, z.B. auf die Funktion von Ionenkanälen am Sinusknoten, eine verminderte Abhängigkeit durch gestörte Koordination der Herzschläge untereinander hervorruft. Von Duncan et al. konnte gezeigt werden, dass $\text{TNF}\alpha$ durch eine Reduktion des intrazellulären Calcium-Gehaltes zu einer verminderten Kontraktilität von Kardiomyozyten beiträgt (Duncan et al. 2010). Gleichzeitig wurde beobachtet, dass es nach Inkubation der Kardiomyozyten mit $\text{TNF}\alpha$ und IL-1 zu einer unkontrollierten Calcium-Freisetzung aus dem endoplasmatischen Retikulum kommen kann. Durch diese plötzlichen Schwankungen des intrazellulären Calciumgehaltes kann es zur spontanen Zelldepolarisation und schließlich zur Auslösung kardialer Arrhythmien kommen. Diese Neigung zu kardialen Arrhythmien spiegelt sich möglicherweise in der von uns festgestellten verminderten Auto-Abhängigkeit der Herzschläge untereinander nach $\text{TNF}\alpha$ -Applikation wider.

Im Gegensatz zu den oben genannten Studien von Malave et al., Godin et al. und Ahmad et al. wurde in der vorliegenden Untersuchung eine gesteigerte Komplexität und verminderte Autoabhängigkeit bei bestehender kompletter

autonomer Blockade festgestellt. Durch die Hemmung efferenter sympathischer und parasympathischer Effekte, die physiologischerweise ja eine große Rolle bei der kardialen Regulation spielen, können äußere Einflüsse (z.B. intrathorakale Druckänderungen), die über lokale Mechanismen die Herzschlagfolge beeinflussen, weniger gut gegenreguliert und kompensiert werden (Slovut et al. 1999). So entsteht ein Signal mit mehr Rauschanteilen, das wiederum eine größere Komplexität bewirkt (Zwiener et al. 2004).

6.2.2. Einfluss des $\text{TNF}\alpha$ auf die Blutdruckfluktuationen

Eine Beeinflussung des arteriellen Mitteldrucks durch $\text{TNF}\alpha$ war erst ab der Muskelrelaxation/Beatmung nachweisbar. In der mit $\text{TNF}\alpha$ behandelten Gruppe war der Blutdruck dann signifikant höher als in der Kontrollgruppe.

Zum Einfluss des $\text{TNF}\alpha$ auf den arteriellen Blutdruck findet man in der Literatur recht unterschiedliche Angaben. In den von Morimoti und Mitarbeitern durchgeführten Experimenten hatte $\text{TNF}\alpha$ (1, 10 und 50 $\mu\text{g/kg}$) nach intraperitonealer Injektion keinen Einfluss auf das Blutdruckniveau (Morimoto et al. 1992). Turner und Mitarbeiter fanden hingegen einen Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks bei wachen Ratten 24 Stunden nach Applikation von $\text{TNF}\alpha$, jedoch keinen Sofort-Effekt, während die Arbeitsgruppe um Greenberg einen initialen Blutdruckanstieg beobachteten (Turner et al. 1989, Greenberg et al. 1995). Nach den Ergebnissen von Tabrizchi erhöht $\text{TNF}\alpha$ (30 $\mu\text{g/kg}$) 2 bis 4 Stunden nach der Applikation den peripheren arteriellen Widerstand und *senkt* gleichzeitig nach 4 Stunden den arteriellen Blutdruck (Tabrizchi 2001a).

In vitro Experimente zeigten, dass nach $\text{TNF}\alpha$ -Applikation die Synthese von Stickstoffmonoxid (NO) erhöht ist (Lau et al. 1995). Der NO-Freisetzung geht eine Aktivierung der endothelialen NO-Synthase (eNOS) durch $\text{TNF}\alpha$ (und durch andere Zytokine, z.B. IL-1) voraus (De Palma et al. 2006). Weiterhin wird durch $\text{TNF}\alpha$ sowohl die Freisetzung von Noradrenalin aus Vorhofzellen (Abadie et al. 1997), als auch die Rezeptorexpression von Vasopressin V(1A)-Rezeptoren vermindert (Bucher et al. 2002). Diese Effekte können zu einem Blutdruckabfall führen.

Ein Modell der essentiellen Hypertonie beinhaltet eine chronische Entzündung als einen pathogenetischen Mechanismus (Marvar et al. 2011). Im Mausmodell

ergaben sich Hinweise darauf, dass $\text{TNF}\alpha$ an dieser Entzündungsreaktion beteiligt ist (Venegas-Pont et al. 2010). Da gleichzeitig eine Erhöhung des NF- κ B in Nierenzellen der hypertensiven Mäuse gefunden wurde, handelt es sich offensichtlich um eine Wirkung des $\text{TNF}\alpha$, die über eine Veränderung der Genexpression geschieht. Daher ist die Latenz bis zum Wirkungseintritt länger als bei einem direkten rezeptorvermittelten Effekt und darüber hinaus dosisunabhängig.

Die Leistungsspektralanalyse der Blutdruckfluktuationen ergab eine durch $\text{TNF}\alpha$ induzierte Reduktion der Gesamtleistung und der Leistung im HF-Band nach Beginn der Muskelrelaxation und Beatmung. Die Leistung im LF-Band wurde tendenziell durch $\text{TNF}\alpha$ während der autonomen Blockaden und während der künstlichen Beatmung gesteigert. Im Gegensatz zu den hier vorgelegten Ergebnissen beschrieben Pancoto und Mitarbeiter eine Reduktion der Leistung der Blutdruckfluktuation im LF-Band während experimenteller Sepsis bei Ratten (Pancoto et al. 2008). Im Experiment von Pancoto et al. war jedoch der Beobachtungszeitraum mit 5 Stunden kürzer als bei der vorliegenden Untersuchung, und es wurden keine autonomen Blockaden durchgeführt.

Die LF-Komponente der BDF wird unter anderem sympathisch (Hedman et al. 1992), aber auch durch Eigenrhythmen der glatten Gefäßmuskulatur vermittelt. Im Versuchsverlauf wurde die Leistung im LF-Band in beiden Gruppen wie erwartet durch β - und α -adrenerge Blockade reduziert. Zu einer weiteren deutlichen Reduktion der Leistung im LF-Band kam es nach Beginn der künstlichen Beatmung. Ein Wirkmechanismus, der über das vegetative Nervensystem vermittelt wird, ist unwahrscheinlich, da der Unterschied zwischen Kontroll- und $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe von den autonomen Blockaden unbeeinflusst bleibt. Es wird daher angenommen, dass die gesteigerte Leistung der BDF im LF-Band infolge der $\text{TNF}\alpha$ -Applikation eine Folge lokaler Einwirkungen im Bereich der Endothelzellen und/oder der glatten Gefäßmuskulatur ist.

Die anhand des Abfalls der AMIF bestimmten komplexen (d.h. linearen *und* nicht-linearen) Blutdruckfluktuationen waren in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe in Narkose signifikant größer als in der Kontrollgruppe. Mit rein linearen Parametern war hier kein Unterschied feststellbar. Nach der Vagotomie war dieser Unterschied zwischen den Gruppen nicht mehr feststellbar, so dass, ähnlich wie bei den Parametern der

Herzfrequenzvariabilität offensichtlich ein intaktes parasympathisches System für die Wirkung des $\text{TNF}\alpha$ erforderlich ist. Eine weitere Wirkung des $\text{TNF}\alpha$ ist eine gesteigerte Komplexität der BDF ab dem Beginn der Muskelrelaxation und Beatmung. Gleichzeitig kam es in der $\text{TNF}\alpha$ -Gruppe zu einer deutlich verminderten Leistung im HF-Band und zu einer gesteigerten spektralen Leistung im LF-Band. Dies spiegelt sich auch in einem signifikant größeren LF-HF-Quotienten wider. Da diese Veränderungen nach nahezu kompletter Ausschaltung des sympathischen und parasympathischen Nervensystems auftraten, müssen sie auf einem anderen Weg als über das autonome Nervensystem vermittelt werden. Hierfür in Frage kommen unter anderem die Mechanismen, über die $\text{TNF}\alpha$ auch auf den Blutdruck einwirkt: Es ist gezeigt worden, dass $\text{TNF}\alpha$ die Expression von Vasopressin-A1-Rezeptoren auf glatten Gefäßmuskelzellen vermindert (Bucher et al. 2002). Außerdem erhöht $\text{TNF}\alpha$ den peripheren arteriellen Widerstand (Tabrizchi 2001a). Für die Erhöhung des peripheren arteriellen Widerstandes werden mehrere Mechanismen diskutiert: $\text{TNF}\alpha$ verstärkt die Wirkung von Superoxid (O_2^-) und führt so zu einer verminderten Wirksamkeit des Stickstoffmonoxids (Shahid et al. 2008). Auch bei cerebralen Vasospasmen infolge einer Subarachnoidalblutung wurden erhöhte $\text{TNF}\alpha$ -Konzentrationen gemessen. Hier scheint das Zytokin über einen Rac1-abhängigen Signalweg an der Vasokonstriktion beteiligt zu sein (Vecchione et al. 2009). Tabrizchi und Mitarbeiter zeigten, dass der von ihnen beobachtete durch $\text{TNF}\alpha$ gesteigerte Gefäßwiderstand durch den Adenosin-Rezeptoragonisten CGS 21680 verhindert werden kann, so dass auch diese Rezeptoren bei der $\text{TNF}\alpha$ -Wirkung eine Rolle spielen. Durch die genannten Mechanismen kann $\text{TNF}\alpha$ also eine verminderte Reagibilität der Gefäße bewirken. Die Widerstandsgefäße sind daher anfälliger gegenüber äußeren, v.a. mechanischen Einflüssen, die zudem nach kompletter autonomer Blockade weniger gut gegenreguliert werden können. Aus dieser reduzierter Regulations- und Reaktionsfähigkeit der Widerstandsgefäße resultiert möglicherweise die beobachtete geringere Autoabhängigkeit und größere Komplexität der Zeitfolge des arteriellen Blutdruckes.

6.2.3. Kopplungsparameter

TNF α führt nach den vorliegenden Ergebnissen zur Entkopplung der normalerweise miteinander gekoppelten biologischen System Herzfrequenz, Atmung und Blutdruck. Diese „Entkopplung“ biologischer Oszillatoren wurde bei vielen Erkrankungen als wichtiger pathophysiologischer Mechanismus erkannt (Ellenby et al. 2001, Norris et al. 2006). Insbesondere bei schwersten Entzündungsreaktionen (SIRS) kommt es zu einer Störung der Organkommunikation, die normalerweise durch neuronale und humorale Faktoren gewährleistet wird. Diese „Entkopplung“ kann letztlich zum Multiorganversagen führen. Eine direkt „entkoppelnde“ Wirkung wurde bisher jedoch nur für Endotoxin nachgewiesen (Ellenby et al. 2001).

Endotoxin führt über Bindung an LBP und Aktivierung des TLR-4 schließlich zur Induktion von NF- κ B und in der Folge zur Synthese proinflammatorischer Zytokine, darunter auch TNF α . Es wurde daher bereits vermutet, dass auch TNF α allein eine Entkopplung der Organsysteme herbeiführen kann.

Die Entkopplung zwischen Herzschlagfolge und Atmung wurde in den vorliegenden Versuchen nach der Vagotomie deutlich. Es ist anzunehmen, dass die durch die Vagotomie nahezu ausgeschaltete parasympathische Kommunikation zu einer Beeinträchtigung des cholinergen antiinflammatorischen Reflexes führt und so die Störung der Organkommunikation begünstigt. Ein intaktes parasympathisches System schützt also offensichtlich vor der durch TNF α und seine Folgemediatoren ausgelösten Entkopplung zwischen Herzschlagfolge und Atmung.

Nach selektiver β_1 -Blockade durch Metoprolol wurde offensichtlich die Kommunikation zwischen diesen Organsystemen verbessert und die Kopplung zu einem Teil wiederhergestellt. Es ist bereits seit langem bekannt, dass ein gesteigerter Sympthotonus zu einer Immundepression führt, die zumindest teilweise durch Symptholytika verhindert werden kann (Madden et al. 1994). Über die Aktivierung von β_2 -Rezeptoren wird z.B. die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine gehemmt und die Freisetzung antiinflammatorischer Zytokine gesteigert (Deng et al. 2004). Durch Blockade von β_1 -Rezeptoren kann experimentell der Plasmaspiegel von TNF α und IL1 gesenkt werden (Suzuki et al. 2005). Die genauen Wirkmechanismen sind jedoch noch

ungeklärt. Bezogen auf unsere Ergebnisse könnte die Blockade der β_1 -Rezeptoren durch Metoprolol eine Modulation der Entzündungsreaktion und dadurch eine Restitution der Kopplung zwischen Herzschlagfolge und Atmung bewirkt haben.

Die Kopplung zwischen Atmung und Blutdruckfluktuationen wurde bereits im Zustand der Narkose, also bei intaktem N. vagus durch $\text{TNF}\alpha$ signifikant reduziert. Dieser Parameter scheint also besonders sensitiv auf die durch $\text{TNF}\alpha$ induzierten Effekte zu sein. Die Entkopplung zwischen Atmung und Blutdruckfluktuationen scheint also nicht durch das parasympathische System verhindert zu werden, da die Entkopplung bereits bei intaktem N. vagus auftrat. Ursache hierfür könnte der größere Einfluss des Sympathikus auf die Blutdruckregulation (verglichen mit der zu einem überwiegenden Teil parasympathisch vermittelten Herzfrequenzvariabilität) sein.

Möglicherweise trägt auch Urethan zu den beobachteten Effekten bei. Es wirkt als Anästhetikum über eine Vielzahl von Rezeptoren und führt dabei zu einer Verstärkung der Wirkung an zentralen neuronalen nikotinergen Rezeptoren, GABA- und Glycinrezeptoren. Gleichzeitig bewirkt es eine Hemmung der Wirkung an NMDA- und AMPA-Rezeptoren (Hara und Harris 2002). Möglicherweise beeinflusst $\text{TNF}\alpha$ bzw. seine Folgemediatoren ebenfalls die Wirkung an einem oder mehreren dieser Rezeptoren, so dass es zu einer Störung der Organkommunikation kommt.

Zu einer dauerhaften Entkopplung aller betrachteten Organsysteme kam es regelmäßig ab dem Zustand der Relaxation und Beatmung. Die durch $\text{TNF}\alpha$ beeinflussten Kopplungsmechanismen scheinen also eher lokal vermittelt zu sein, da sie erst auftreten, wenn sowohl das sympathische Nervensystem durch medikamentöse Blockade, als auch das parasympathische Nervensystem durch Vagotomie blockiert wurden. In Frage kommen hier direkte Wirkungen an der glatten Gefäßmuskulatur z.B. durch Freisetzung von NO und verminderte Reagibilität auf Vasokonstriktoren, z.B. Vasopressin (s. S. 75). Betrachtet man die Regulation der Herzschlagfolge, sind lokale Wirkungen am Sinusknoten, z.B. durch Beeinflussung von L-Typ Calciumkanäle (s. S. 69) denkbar. Da die Beeinträchtigung der Kopplung bei intakter vegetativer Kommunikation nicht auftritt, ist dieser Effekt des $\text{TNF}\alpha$ offensichtlich nicht über das vegetative Nervensystem vermittelt.

Bisher wurde die Entkopplung physiologischerweise miteinander gekoppelter Organsysteme, einhergehend mit einer verminderten Variabilität der einzelnen Zeitreihen, vor allem der Zeitreihe der Herzfrequenz, im Rahmen der Sepsis als ein grundlegender pathophysiologischer Mechanismus des MODS beschrieben. Garrard und Mitarbeiter beschrieben eine verminderte spektrale Leistung der Herzfrequenzvariabilität bei Patienten mit septischen Krankheitsbildern (Garrard et al. 1993). Godin und Buchman vermuteten eine Beeinträchtigung der Kommunikation zwischen physiologischerweise miteinander gekoppelten Organsystemen im Rahmen der inflammatorischen Reaktion. Experimentell wiesen sie eine verminderte Herzfrequenzvariabilität nach Endotoxinapplikation beim Menschen nach (Godin et al. 1996). Kopplungsparameter wurden von Godin und Buchman jedoch nicht bestimmt, die Entkopplung der biologischen Oszillatoren wurde auf Basis der Arbeit von Pincus angenommen (Pincus 1994). Pincus konnte mit Hilfe mathematischer Modelle nachweisen, dass eine gesteigerte Regularität in miteinander gekoppelten Systemen auf eine gestörte Kommunikation zwischen den Systemen hinweist. Auch in den vorliegenden Versuchen wurde die spektrale Leistung der HFV und der BDF durch $\text{TNF}\alpha$ nach kompletter autonomer Blockade und bei künstlicher Beatmung verringert. Gleichzeitig war eine Verminderung der linearen und komplexen Kopplung nachweisbar, und die SDNN der Herzfrequenz war nach $\text{TNF}\alpha$ -Applikation tendenziell verringert. Die Parameter der Autokorrelation und der Autotransinformation zeigten jedoch eine größere Komplexität und geringere Autoabhängigkeit unter dem Einfluss von $\text{TNF}\alpha$ an. Dies ist verglichen mit früheren Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen ein unerwartetes Ergebnis und zudem widersprüchlich zu den oben erwähnten Theorien von Pincus. Die bisher von anderen Autoren beschriebene verminderte Komplexität (z.B. anhand des Parameters approximierter Entropie) (Godin et al. 1996, Schmidt et al. 2001, Rassias et al. 2005) bei Sepsis und MODS bzw. experimentell erzeugter Endotoxinämie konnte im vorliegenden Versuch nicht nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse sind jedoch mit denen der genannten Arbeitsgruppen nur eingeschränkt vergleichbar. Im Gegensatz zu bisherigen Versuchen wurden in der vorliegenden Untersuchung die HRV- und BDF-Parameter auch unter Urethannarkose, kompletter vegetativer Blockade und während künstlicher

Beatmung sowie nach Thorakotomie betrachtet. Um diese Ergebnisse genauer einordnen zu können, sind weitere Versuche mit unterschiedlich langen Einwirk- und Beobachtungszeiträumen notwendig. Zudem wäre es von Interesse, die Einflüsse des $\text{TNF}\alpha$ auf die HFV-, BDF- und Kopplungsparameter nach isolierten Blockaden des vegetativen Nervensystems, Narkose mit verschiedenen Anästhetika und unter kontrollierter Beatmung ohne vorherige andere Manipulationen zu untersuchen.

7. Schlussfolgerung

$\text{TNF}\alpha$ stört die Kommunikation der physiologischerweise miteinander gekoppelten biologischen Oszillatoren. In den hier beschriebenen Versuchen konnte nachgewiesen werden, dass $\text{TNF}\alpha$ als ein wichtiger Entzündungsmediator maßgeblich an der Störung der Organkommunikation beteiligt ist. Die bei vielen sehr unterschiedlichen Krankheitsbildern (erregerbedingte entzündliche Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen, chronische Herzinsuffizienz) festgestellte gestörte Variabilität von Herzschlagfolge und arteriellem Blutdruck kann durch die Beteiligung von $\text{TNF}\alpha$ an der Pathogenese dieser Erkrankungen erklärt werden. Es werden vor allem Kopplungsmechanismen gestört, die von der vegetativen Innervation unabhängig sind. $\text{TNF}\alpha$ löst jedoch auch eine Aktivierung des „inflammatorischen Reflexes“ aus, der eine lokale Kontrolle und Eingrenzung von Entzündungsreaktionen bewirkt (Tracey 2002). Durch die Aktivierung des „cholinergen antiinflammatorischen Reflexes“ wird die Wirkung des $\text{TNF}\alpha$ im Sinne einer negativen Rückkopplung reduziert. Dennoch kommt es auch bei intaktem cholinergen System zu einer Entkopplung der physiologischerweise miteinander gekoppelten Systeme, insbesondere zwischen Blutdruckfluktuationen und der Atmung. Hier spielt möglicherweise die Beeinflussung der vom vegetativen Nervensystem unabhängigen neurozirkulatorischen Regulationsmechanismen eine Rolle. Zu denken ist hier unter anderem an GABA-, Glycin-, NMDA- und AMPA-Rezeptoren. Die Wirkungsmechanismen des $\text{TNF}\alpha$ an den Zielzellen sind bisher nur zum Teil aufgeklärt. Hier sind weitere In-vitro-Untersuchungen notwendig.

Eine Überlegenheit der nichtlinearen gegenüber den linearen Parametern bei der Ermittlung der Auswirkung des $\text{TNF}\alpha$ konnten wir nicht nachweisen.

8. Literaturverzeichnis

- Abadie C, Foucart S, Page P, Nadeau R. 1997. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha inhibit the release of [3H]-noradrenaline from isolated human atrial appendages. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 355 (3):384-389.
- Ahmad S, Ramsay T, Huebsch L, Flanagan S, McDiarmid S, Batkin I, McIntyre L, Sundaresan SR, Maziak DE, Shamji FM, Hebert P, Fergusson D, Tinmouth A, Seely AJ. 2009. Continuous multi-parameter heart rate variability analysis heralds onset of sepsis in adults. *PLoS One*, 4 (8):e6642.
- Akselrod S, Gordon D, Ubel FA, Shannon DC, Berger AC, Cohen RJ. 1981. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science*, 213 (4504):220-222.
- Akselrod S, Gordon D, Madwed JB, Snidman NC, Shannon DC, Cohen RJ. 1985. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. *Am J Physiol*, 249 (4 Pt 2):H867-875.
- Amiot F, Fitting C, Tracey KJ, Cavaillon JM, Dautry F. 1997. Lipopolysaccharide-induced cytokine cascade and lethality in LT alpha/TNF alpha-deficient mice. *Molecular medicine (Cambridge, Mass)*, 3 (12):864-875.
- Andriantsitohaina R, Surprenant A. 1992. Acetylcholine released from guinea-pig submucosal neurones dilates arterioles by releasing nitric oxide from endothelium. *The Journal of physiology*, 453:493-502.
- Anne D, Trabold F, Sharshar T, Jarrin I, Blanc AS, Raphael JC, Gajdos P. 1999. Inappropriate sympathetic activation at onset of septic shock: a spectral analysis approach. *Am J Respir Crit Care Med*, 160 (2):458-465.
- Aubert AE, Ramaekers D, Beckers F, Breem R, Denef C, Van de Werf F, Ector H. 1999. The analysis of heart rate variability in unrestrained rats. Validation of method and results. *Comput Methods Programs Biomed*, 60 (3):197-213.
- Baltatu O, Janssen BJ, Bricca G, Plehm R, Monti J, Ganten D, Bader M. 2001. Alterations in blood pressure and heart rate variability in transgenic rats with low brain angiotensinogen. *Hypertension*, 37 (2 Part 2):408-413.
- Barnaby D, Ferrick K, Kaplan DT, Shah S, Bijur P, Gallagher EJ. 2002. Heart rate variability in emergency department patients with sepsis. *Acad Emerg Med*, 9 (7):661-670.
- Beckers F, Verheyden B, Ramaekers D, Swynghedauw B, Aubert AE. 2006. Effects of autonomic blockade on non-linear cardiovascular variability indices in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 33 (5-6):431-439.

- Beno DW, Kimura RE. 1999. Nonstressed rat model of acute endotoxemia that unmasks the endotoxin-induced TNF-alpha response. *Am J Physiol*, 276 (2 Pt 2):H671-678.
- Berntson GG, Cacioppo JT, Quigley KS. 1993. Respiratory sinus arrhythmia: autonomic origins, physiological mechanisms, and psychophysiological implications. *Psychophysiology*, 30 (2):183-196.
- Berntson GG, Bigger JT, Jr., Eckberg DL, Grossman P, Kaufmann PG, Malik M, Nagaraja HN, Porges SW, Saul JP, Stone PH, van der Molen MW. 1997. Heart rate variability: origins, methods, and interpretive caveats. *Psychophysiology*, 34 (6):623-648.
- Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan YC, Mathison J, Ulevitch R, Cerami A. 1985. Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature*, 316 (6028):552-554.
- Bonaduce D, Marciano F, Petretta M, Migaux ML, Morgano G, Bianchi V, Salemme L, Valva G, Condorelli M. 1994. Effects of converting enzyme inhibition on heart period variability in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, 90 (1):108-113.
- Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, Wang H, Abumrad N, Eaton JW, Tracey KJ. 2000. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, 405 (6785):458-462.
- Bousquet P, Decker N, Feldman J, Schwartz J. 1983. [Cardiovascular effects of urapidil]. *J Pharmacol*, 14 (4):465-472.
- Bucher M, Hobbhahn J, Taeger K, Kurtz A. 2002. Cytokine-mediated downregulation of vasopressin V(1A) receptors during acute endotoxemia in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 282 (4):R979-984.
- Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. 1975. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72 (9):3666-3670.
- Chikanza IC. 1999. Neuroendocrine immune features of pediatric inflammatory rheumatic diseases. *Ann N Y Acad Sci*, 876:71-80; discussion 80-72.
- Clark IA. 2007. How TNF was recognized as a key mechanism of disease. *Cytokine Growth Factor Rev*, 18 (3-4):335-343.
- Costa M, Goldberger AL, Peng CK. 2002. Multiscale entropy analysis of complex physiologic time series. *Phys Rev Lett*, 89 (6):068102.
- Dabire H, Mestivier D, Jarnet J, Safar ME, Chau NP. 1998. Quantification of sympathetic and parasympathetic tones by nonlinear indexes in normotensive rats. *Am J Physiol*, 275 (4 Pt 2):H1290-1297.

- Daniels FH, Leonard EF, Cortell S. 1983. Spectral analysis of arterial blood pressure in the rat. *IEEE Trans Biomed Eng*, 30 (3):154-159.
- de Bruyne MC, Kors JA, Hoes AW, Klootwijk P, Dekker JM, Hofman A, van Bommel JH, Grobbee DE. 1999. Both decreased and increased heart rate variability on the standard 10-second electrocardiogram predict cardiac mortality in the elderly: the Rotterdam Study. *American journal of epidemiology*, 150 (12):1282-1288.
- De Palma C, Meacci E, Perrotta C, Bruni P, Clementi E. 2006. Endothelial nitric oxide synthase activation by tumor necrosis factor alpha through neutral sphingomyelinase 2, sphingosine kinase 1, and sphingosine 1 phosphate receptors: a novel pathway relevant to the pathophysiology of endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 26 (1):99-105.
- deBoer RW, Karemaker JM, Strackee J. 1987. Hemodynamic fluctuations and baroreflex sensitivity in humans: a beat-to-beat model. *Am J Physiol*, 253 (3 Pt 2):H680-689.
- Dembic Z, Loetscher H, Gubler U, Pan YC, Lahm HW, Gentz R, Brockhaus M, Lesslauer W. 1990. Two human TNF receptors have similar extracellular, but distinct intracellular, domain sequences. *Cytokine*, 2 (4):231-237.
- Deng J, Muthu K, Gamelli R, Shankar R, Jones SB. 2004. Adrenergic modulation of splenic macrophage cytokine release in polymicrobial sepsis. *Am J Physiol Cell Physiol*, 287 (3):C730-736.
- Duncan DJ, Yang Z, Hopkins PM, Steele DS, Harrison SM. 2010. TNF-alpha and IL-1beta increase Ca²⁺ leak from the sarcoplasmic reticulum and susceptibility to arrhythmia in rat ventricular myocytes. *Cell Calcium*, 47 (4):378-386.
- Edmunds NJ, Woodward B. 1998. Effects of tumour necrosis factor-alpha on the coronary circulation of the rat isolated perfused heart: a potential role for thromboxane A2 and sphingosine. *Br J Pharmacol*, 124 (3):493-498.
- Ellenby MS, McNames J, Lai S, McDonald BA, Krieger D, Scabassi RJ, Goldstein B. 2001. Uncoupling and recoupling of autonomic regulation of the heart beat in pediatric septic shock. *Shock*, 16 (4):274-277.
- Esperer H-D. 1994. Physiologische Grundlagen und pathophysiologische Aspekte der Herzfrequenzvariabilität beim Menschen. *Herzschr Elektrophys*, 5 suppl. 2:1-10.
- Ewing DJ, Martyn CN, Young RJ, Clarke BF. 1985. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. *Diabetes care*, 8 (5):491-498.
- Faber JE. 1989. Effects of althesin and urethan-chloralose on neurohumoral cardiovascular regulation. *Am J Physiol*, 256 (3 Pt 2):R757-765.
- Fleisher LA, Frank SM, Sessler DI, Cheng C, Matsukawa T, Vannier CA. 1996. Thermoregulation and heart rate variability. *Clin Sci (Lond)*, 90 (2):97-103.

- Forfia PR, Zhang X, Ochoa F, Ochoa M, Xu X, Bernstein R, Sehgal PB, Ferreri NR, Hintze TH. 1998. Relationship between plasma NO_x and cardiac and vascular dysfunction after LPS injection in anesthetized dogs. *The American journal of physiology*, 274 (1 Pt 2):H193-201.
- Furchgott RF, Zawadzki JV. 1980. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288 (5789):373-376.
- Garrard CS, Kontoyannis DA, Piepoli M. 1993. Spectral analysis of heart rate variability in the sepsis syndrome. *Clin Auton Res*, 3 (1):5-13.
- Godin PJ, Fleisher LA, Eidsath A, Vandivier RW, Preas HL, Banks SM, Buchman TG, Suffredini AF. 1996. Experimental human endotoxemia increases cardiac regularity: results from a prospective, randomized, crossover trial. *Crit Care Med*, 24 (7):1117-1124.
- Goldstein B, Kempinski MH, Stair D, Tipton RB, DeKing D, DeLong DJ, DeAsla R, Cox C, Lund N, Woolf PD. 1995. Autonomic modulation of heart rate variability during endotoxin shock in rabbits. *Crit Care Med*, 23 (10):1694-1702.
- Goldstein DS. 2001. The autonomic nervous system in health and disease. New York: M. Dekker.
- Goto M, Deriy LV, Chen YJ, Beno DW, Uhing MR, Jiyamapa-Serna VA, Kimura RE. 2001. TNF-alpha increases sensitivity to LPS in chronically catheterized rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 280 (6):H2857-2862.
- Grasso R, Rizzi G, Schena F, Cevese A. 1995. Arterial baroreceptors are not essential for low frequency oscillation of arterial pressure. *J Auton Nerv Syst*, 50 (3):323-331.
- Greenberg SS, Xie J, Joseph KO, Kolls J, Summer W. 1995. In vivo administration of endotoxin and tumor necrosis factor-alpha produce different effects on constitutive and inducible nitric oxide synthase activity in rat neutrophils and aorta ex vivo. *Proc Soc Exp Biol Med*, 208 (2):199-208.
- Gulick T, Chung MK, Pieper SJ, Lange LG, Schreiner GF. 1989. Interleukin 1 and tumor necrosis factor inhibit cardiac myocyte beta-adrenergic responsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86 (17):6753-6757.
- Guyton AC, Coleman TG, Fourcade JC, Navar LG. 1969. Physiologic control of arterial pressure. *Bull N Y Acad Med*, 45 (9):811-830.
- Guzzetti S, Magatelli R, Borroni E, Mezzetti S. 2001. Heart rate variability in chronic heart failure. *Auton Neurosci*, 90 (1-2):102-105.
- Guzzetti S, Signorini MG, Cogliati C, Mezzetti S, Porta A, Cerutti S, Malliani A. 1996. Non-linear dynamics and chaotic indices in heart rate variability of normal subjects and heart-transplanted patients. *Cardiovasc Res*, 31 (3):441-446.

- Guzzetti S, Mezzetti S, Magatelli R, Porta A, De Angelis G, Rovelli G, Malliani A. 2000. Linear and non-linear 24 h heart rate variability in chronic heart failure. *Auton Neurosci*, 86 (1-2):114-119.
- Hara K, Harris RA. 2002. The anesthetic mechanism of urethane: the effects on neurotransmitter-gated ion channels. *Anesth Analg*, 94 (2):313-318,.
- Hardraht H. 2003. Bestimmung linearer und nichtlinearer Komponenten der Herzfrequenzvariabilität und der Blutdruckfluktuation durch sukzessive Denervierung und Isolierung des Rattenherzens und deren pathophysiologische Beeinflussung. Dissertation, Medizinische Fakultät, Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- Hashimoto M, Kuwahara M, Tsubone H, Sugano S. 1999. Diurnal variation of autonomic nervous activity in the rat: investigation by power spectral analysis of heart rate variability. *J Electrocardiol*, 32 (2):167-171.
- Hedman AE, Hartikainen JE, Tahvanainen KU, Hakumaki MO. 1992. Power spectral analysis of heart rate and blood pressure variability in anaesthetized dogs. *Acta Physiol Scand*, 146 (2):155-164.
- Heitmann A, Huebner T, Schroeder R, Perz S, Voss A. 2010. Multivariate short-term heart rate variability: a pre-diagnostic tool for screening heart disease. *Med Biol Eng Comput*.
- Hoyer D. 2009. Zur Bedeutung und Analyse der Herzfrequenzvariabilität. *Das Neurophysiologie-Labor*, 31 (3):158-171.
- Hoyer D, Schmidt K, Zwiener U, Bauer R. 1996. Characterization of complex heart rate dynamics and their pharmacological disorders by non-linear prediction and special data transformations. *Cardiovasc Res*, 31 (3):434-440.
- Hoyer D, Pompe B, Herzel H, Zwiener U. 1998. Nonlinear coordination of cardiovascular autonomic control. *IEEE Eng Med Biol Mag*, 17 (6):17-21.
- Hoyer D, Pompe B, Chon KH, Hardraht H, Wicher C, Zwiener U. 2005. Mutual information function assesses autonomic information flow of heart rate dynamics at different time scales. *IEEE transactions on bio-medical engineering*, 52 (4):584-592.
- Hoyer D, Schmidt K, Bauer R, Zwiener U, Kohler M, Luthke B, Eiselt M. 1997. Nonlinear analysis of heart rate and respiratory dynamics. *IEEE Eng Med Biol Mag*, 16 (1):31-39.
- Huang J, Wang Y, Jiang D, Zhou J, Huang X. 2010. The sympathetic-vagal balance against endotoxemia. *J Neural Transm*, 117 (6):729-735.
- Huston JM, Tracey KJ. 2011. The pulse of inflammation: heart rate variability, the cholinergic anti-inflammatory pathway and implications for therapy. *J Intern Med*, 269 (1):45-53.

- Johansson B. 1979. Effects of atenolol, metoprolol, and pamtolol on cardiac and vascular beta-adrenoceptors in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1 (3):287-298.
- Karim F, Kaufman S, Kappagoda CT. 1982. Effect of stimulating right atrial receptors on renal blood flow. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 60 (12):1672-1679.
- Kautzner J, Camm AJ. 1997. Clinical relevance of heart rate variability. *Clin Cardiol*, 20 (2):162-168.
- Kitney RI, Rempelman O, Biological Engineering Society. 1980. An analysis of the thermoregulation influences on heart rate variability. *The Study of heart-rate variability*. Oxford: Clarendon Press; New York : Oxford University Press, 81-106.
- Langhorst P, Schulz B, Schulz G, Lambertz M. 1983. Reticular formation of the lower brainstem. A common system for cardiorespiratory and somatomotor functions: discharge patterns of neighboring neurons influenced by cardiovascular and respiratory afferents. *J Auton Nerv Syst*, 9 (2-3):411-432.
- Lanza GA, Pedrotti P, Rebuzzi AG, Pasceri V, Quaranta G, Maseri A. 1997. Usefulness of the addition of heart rate variability to Holter monitoring in predicting in-hospital cardiac events in patients with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol*, 80 (3):263-267.
- Lanza GA, Galeazzi M, Guido V, Lucente M, Bellocchi F, Zecchi P, Maseri A. 1999. Additional predictive value of heart rate variability in high-risk patients surviving an acute myocardial infarction. *Cardiologia*, 44 (3):249-253.
- Larsen PD, Galletly DC. 1999. Cardioventilatory coupling in the anaesthetised rabbit, rat and guinea-pig. *Pflugers Arch*, 437 (6):910-916.
- Latson TW, McCarroll SM, Mirhej MA, Hyndman VA, Whitten CW, Lipton JM. 1992. Effects of three anesthetic induction techniques on heart rate variability. *J Clin Anesth*, 4 (4):265-276.
- Lau KS, Nakashima O, Aalund GR, Hogarth L, Ujiie K, Yuen J, Star RA. 1995. TNF-alpha and IFN-gamma induce expression of nitric oxide synthase in cultured rat medullary interstitial cells. *Am J Physiol*, 269 (2 Pt 2):F212-217.
- Leon LR, White AA, Kluger MJ. 1998. Role of IL-6 and TNF in thermoregulation and survival during sepsis in mice. *Am J Physiol*, 275 (1 Pt 2):R269-277.
- Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. 1990. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *The New England journal of medicine*, 323 (4):236-241.
- Li XQ, Zhao MG, Mei QB, Zhang YF, Guo W, Wang HF, Chen D, Cui Y. 2003. Effects of tumor necrosis factor-alpha on calcium movement in rat ventricular myocytes. *Acta Pharmacol Sin*, 24 (12):1224-1230.

- Ludwig C. 1847. Beiträge zur Kenntnis des Einflusses der Respirationsbewegungen auf den Blutlauf im Aortensysteme. Arch Anat Physiol, 13:242-302.
- Madden KS, Felten SY, Felten DL, Hardy CA, Livnat S. 1994. Sympathetic nervous system modulation of the immune system. II. Induction of lymphocyte proliferation and migration in vivo by chemical sympathectomy. J Neuroimmunol, 49 (1-2):67-75.
- Maenpää M, Laitio T, Kuusela T, Penttilä J, Kaisti K, Aalto S, Hinkka-Yli-Salomäki S, Scheinin H. 2011. Delta entropy of heart rate variability along with deepening anesthesia. Anesth Analg, 112 (3):587-592.
- Maestri R, Pinna GD, Accardo A, Allegrini P, Balocchi R, D'Addio G, Ferrario M, Menicucci D, Porta A, Sassi R, Signorini MG, La Rovere MT, Cerutti S. 2007. Nonlinear indices of heart rate variability in chronic heart failure patients: redundancy and comparative clinical value. Journal of cardiovascular electrophysiology, 18 (4):425-433.
- Maini RN, Elliott MJ, Brennan FM, Feldmann M. 1995. Beneficial effects of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) blockade in rheumatoid arthritis (RA). Clin Exp Immunol, 101 (2):207-212.
- Malave HA, Taylor AA, Nattama J, Deswal A, Mann DL. 2003. Circulating levels of tumor necrosis factor correlate with indexes of depressed heart rate variability: a study in patients with mild-to-moderate heart failure. Chest, 123 (3):716-724.
- Malliani A, Lombardi F, Pagani M, Cerutti S. 1994. Power spectral analysis of cardiovascular variability in patients at risk for sudden cardiac death. J Cardiovasc Electrophysiol, 5 (3):274-286.
- Malpas SC. 1998. The rhythmicity of sympathetic nerve activity. Progress in neurobiology, 56 (1):65-96.
- Malpas SC, Maling TJ. 1990. Heart-rate variability and cardiac autonomic function in diabetes. Diabetes, 39 (10):1177-1181.
- Marsland AL, Gianaros PJ, Prather AA, Jennings JR, Neumann SA, Manuck SB. 2007. Stimulated production of proinflammatory cytokines covaries inversely with heart rate variability. Psychosom Med, 69 (8):709-716.
- Marvar PJ, Lob H, Vinh A, Zarreen F, Harrison DG. 2011. The central nervous system and inflammation in hypertension. Curr Opin Pharmacol, 11 (2):156-161.
- Michaelson A, Loer D, Melchart D, Dobos G. 1999. [Changes of short-time heart rate variability during hyperthermia treatment with infrared A whole body irradiation]. Forsch Komplementarmed, 6 (4):212-215.
- Mollace V, Muscoli C, Palma E, Iannone M, Granato T, Nistico R, Rotiroli D. 2001. Central cardiovascular responses induced by interleukin 1 beta and tumor necrosis factor alpha infused into nucleus tractus solitarius, nucleus

- parabrachialis medialis and third cerebral ventricle of normotensive rats. *Neurosci Lett*, 314 (1-2):53-56.
- Montano N, Porta A, Cogliati C, Costantino G, Tobaldini E, Casali KR, Iellamo F. 2009. Heart rate variability explored in the frequency domain: a tool to investigate the link between heart and behavior. *Neurosci Biobehav Rev*, 33 (2):71-80.
- Morimoto K, Morimoto A, Nakamori T, Tan N, Minagawa T, Murakami N. 1992. Cardiovascular responses induced in free-moving rats by immune cytokines. *J Physiol*, 448:307-320.
- Mukhina IV, Dvornikov AV, Kamaidanov NA. 2000. Variability of the rhythm of isolated rat heart. *Bull Exp Biol Med*, 129 (5):417-419.
- Muller-Werdan U, Schumann H, Fuchs R, Reithmann C, Loppnow H, Koch S, Zimny-Arndt U, He C, Darmer D, Jungblut P, Stadler J, Holtz J, Werdan K. 1997. Tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) is cardiodepressant in pathophysiologically relevant concentrations without inducing inducible nitric oxide-(NO)-synthase (iNOS) or triggering serious cytotoxicity. *J Mol Cell Cardiol*, 29 (11):2915-2923.
- Nafz B, Wagner CD, Persson PB. 1997. Endogenous nitric oxide buffers blood pressure variability between 0.2 and 0.6 Hz in the conscious rat. *Am J Physiol*, 272 (2 Pt 2):H632-637.
- Nakamura H, Seto Y, Motoyoshi S, Kadokawa T, Sunahara N. 1988. Recombinant human tumor necrosis factor causes long-lasting and prostaglandin-mediated fever, with little tolerance, in rabbits. *J Pharmacol Exp Ther*, 245 (1):336-341.
- Nakatsuji K, Kii Y, Fujitani B, Ito T. 1990. General pharmacology of recombinant human tumor necrosis factor. 1st communication: effects on cardiovascular, gastrointestinal, renal and blood functions. *Arzneimittelforschung*, 40 (2 Pt 1):218-225.
- Nobrega AC, dos Reis AF, Moraes RS, Bastos BG, Ferlin EL, Ribeiro JP. 2001. Enhancement of heart rate variability by cholinergic stimulation with pyridostigmine in healthy subjects. *Clin Auton Res*, 11 (1):11-17.
- Norris PR, Ozdas A, Cao H, Williams AE, Harrell FE, Jenkins JM, Morris JA, Jr. 2006. Cardiac uncoupling and heart rate variability stratify ICU patients by mortality: a study of 2088 trauma patients. *Ann Surg*, 243 (6):804-812; discussion 812-804.
- Paddleford RR, Erhardt W, Hrsg. 1992. Anästhesie bei Kleintieren. Schattauer.
- Pancoto JA, Correa PB, Oliveira-Pelegrin GR, Rocha MJ. 2008. Autonomic dysfunction in experimental sepsis induced by cecal ligation and puncture. *Auton Neurosci*, 138 (1-2):57-63.

- Paton JF, Boscan P, Pickering AE, Nalivaiko E. 2005. The yin and yang of cardiac autonomic control: vago-sympathetic interactions revisited. *Brain Res Brain Res Rev*, 49 (3):555-565.
- Perez C, Albert I, DeFay K, Zachariades N, Gooding L, Kriegler M. 1990. A nonsecretable cell surface mutant of tumor necrosis factor (TNF) kills by cell-to-cell contact. *Cell*, 63 (2):251-258.
- Perlini S, Solda PL, Piepoli M, Sala-Gallini G, Calciati A, Finardi G, Bernardi L. 1995. Determinants of respiratory sinus arrhythmia in the vagotomized rabbit. *Am J Physiol*, 269 (3 Pt 2):H909-915.
- Pichot V, Buffiere S, Gaspoz JM, Costes F, Molliex S, Duverney D, Roche F, Barthelemy JC. 2001. Wavelet transform of heart rate variability to assess autonomic nervous system activity does not predict arousal from general anesthesia. *Can J Anaesth*, 48 (9):859-863.
- Piepoli M, Garrard CS, Kontoyannis DA, Bernardi L. 1995. Autonomic control of the heart and peripheral vessels in human septic shock. *Intensive Care Med*, 21 (2):112-119.
- Pincus SM. 1991. Approximate entropy as a measure of system complexity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88 (6):2297-2301.
- Pincus SM. 1994. Greater signal regularity may indicate increased system isolation. *Math Biosci*, 122 (2):161-181.
- Pocsik E, Duda E, Wallach D. 1995. Phosphorylation of the 26 kDa TNF precursor in monocytic cells and in transfected HeLa cells. *Journal of inflammation*, 45 (3):152-160.
- Pomeranz B, Macaulay RJ, Caudill MA, Kutz I, Adam D, Gordon D, Kilborn KM, Barger AC, Shannon DC, Cohen RJ, et al. 1985. Assessment of autonomic function in humans by heart rate spectral analysis. *Am J Physiol*, 248 (1 Pt 2):H151-153.
- Pompe B, Blidh P, Hoyer D, Eiselt M. 1998. Using mutual information to measure coupling in the cardiorespiratory system. *IEEE Eng Med Biol Mag*, 17 (6):32-39.
- Pontet J, Contreras P, Curbelo A, Medina J, Noveri S, Bentancourt S, Migliaro ER. 2003. Heart rate variability as early marker of multiple organ dysfunction syndrome in septic patients. *Journal of critical care*, 18 (3):156-163.
- Potter LR, Yoder AR, Flora DR, Antos LK, Dickey DM. 2009. Natriuretic peptides: their structures, receptors, physiologic functions and therapeutic applications. *Handb Exp Pharmacol*, (191):341-366.
- Preiss G, Polosa C. 1974. Patterns of sympathetic neuron activity associated with Mayer waves. *Am J Physiol*, 226 (3):724-730.

- Rassias AJ, Holzberger PT, Givan AL, Fahrner SL, Yeager MP. 2005. Decreased physiologic variability as a generalized response to human endotoxemia. *Crit Care Med*, 33 (3):512-519.
- Richter DW, Spyer KM. 1990. Cardiorespiratory control. Central regulation of autonomic functions. New York: Oxford University Press, 189.
- Rizzoni D, Castellano M, Porteri E, Bettoni G, Muiesan P, Muiesan ML, Giulini SM, Cinelli A, Salvetti M, Agabiti Rosei E. 1995. Arterial spontaneous rhythmic contractile activity in humans and rats: spectral analysis and regulatory mechanisms. *J Hypertens*, 13 (9):1043-1052.
- Saigusa T. 1990. Participation of interleukin-1 and tumor necrosis factor in the responses of the sympathetic nervous system during lipopolysaccharide-induced fever. *Pflugers Arch*, 416 (3):225-229.
- Scheringa M, Keizer A, Jeekel J, Marquet RL. 1989. Anti-tumor effect of recombinant murine TNF-alpha (rMuTNFa) given by continuous i.v. infusion as compared to repeated i.v. injections in a rat liver metastasis model. *Int J Cancer*, 43 (5):905-909.
- Schirmer WJ, Schirmer JM, Fry DE. 1989. Recombinant human necrosis factor produces haemodynamic changes characteristic of sepsis and endotoxemia. *Arch Surg*, 124:445-448.
- Schmidt H, Saworski J, Werdan K, Muller-Werdan U. 2007. Decreased beating rate variability of spontaneously contracting cardiomyocytes after co-incubation with endotoxin. *J Endotoxin Res*, 13 (6):339-342.
- Schmidt H, Muller-Werdan U, Hoffmann T, Francis DP, Piepoli MF, Rauchhaus M, Prondzinsky R, Loppnow H, Buerke M, Hoyer D, Werdan K. 2005. Autonomic dysfunction predicts mortality in patients with multiple organ dysfunction syndrome of different age groups. *Critical care medicine*, 33 (9):1994-2002.
- Schmidt HB, Werdan K, Muller-Werdan U. 2001. Autonomic dysfunction in the ICU patient. *Curr Opin Crit Care*, 7 (5):314-322.
- Shahid M, Francis J, Majid DS. 2008. Tumor necrosis factor-alpha induces renal vasoconstriction as well as natriuresis in mice. *Am J Physiol Renal Physiol*, 295 (6):F1836-1844.
- Sica AL, Hundley BW, Gootman PM, Ruggiero DA. 2001. The Sympathetic Nervous System of the Developing Mammal. In: Scharf SM, Pinsky MR, Magder S, Hrsg. Respiratory-circulatory interactions in health and diseases. New York, NY: M. Dekker, xxvi, 961.
- Slovut DP, Wenstrom JC, Moeckel RB, Salerno CT, Park SJ, Osborn JW. 1999. Beat-to-beat modulation of heart rate is coupled to coronary perfusion pressure in the isolated heart. *J Appl Physiol*, 86 (2):694-700.

- Storella RJ, Kandell RB, Horrow JC, Ackerman TS, Polansky M, Zietz S. 1995. Nonlinear measures of heart rate variability after fentanyl-based induction of anesthesia. *Anesth Analg*, 81 (6):1292-1294.
- Straburzynska-Migaj E, Ochotny R, Wachowiak-Baszynska A, Straburzynska-Lupa A, Lesniewska K, Wiktorowicz K, Cieslinski A. 2005. Cytokines and heart rate variability in patients with chronic heart failure. *Kardiologia polska*, 63 (5):478-485; discussion 486-477.
- Suzuki T, Morisaki H, Serita R, Yamamoto M, Kotake Y, Ishizaka A, Takeda J. 2005. Infusion of the beta-adrenergic blocker esmolol attenuates myocardial dysfunction in septic rats. *Crit Care Med*, 33 (10):2294-2301.
- Tabrizchi R. 2001a. The influence of tumour necrosis factor- α on the cardiovascular system of anaesthetized rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 363 (3):307-321.
- Tabrizchi R. 2001b. The influence of tumour necrosis factor- α on the cardiovascular system of anaesthetized rats. *Naunyn-Schiedeberg's Arch Pharmacol*, 363:307-321.
- TaskForce. 1996. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *European heart journal*, 17 (3):354-381.
- Thiemermann C, Wu CC, Szabo C, Perretti M, Vane JR. 1993. Role of tumour necrosis factor in the induction of nitric oxide synthase in a rat model of endotoxin shock. *Br J Pharmacol*, 110 (1):177-182.
- Tracey KJ. 2002. The inflammatory reflex. *Nature*, 420 (6917):853-859.
- Tracey KJ, Cerami A. 1989. Cachectin/tumor necrosis factor and other cytokines in infectious disease. *Curr Opin Immunol*, 1 (3):454-461.
- Tracey KJ, Lowry SF, Cerami A. 1987. Physiological responses to cachectin. *Ciba Found Symp*, 131:88-108.
- Trautwein W, Kassebaum DG. 1961. On the mechanism of spontaneous impulse generation in the pacemaker of the heart. *The Journal of general physiology*, 45:317-330.
- Troncoso E, Rodriguez M, Feria M. 1995. Light-induced arousal affects simultaneously EEG and heart rate variability in the rat. *Neurosci Lett*, 188 (3):167-170.
- Trzebski A, Baradziej S. 1992. Role of the rostral ventrolateral medulla in the generation of synchronized sympathetic rhythmicities in the rat. *J Auton Nerv Syst*, 41 (1-2):129-139.
- Turner CR, Esser KM, Wheeldon EB, Slivjak M, Smith EF, 3rd. 1989. Cardiovascular and pulmonary effects of human recombinant tumor necrosis factor in the conscious rat. *Circ Shock*, 28 (4):369-384.

- van Lanschot JJ, Mealy K, Wilmore DW. 1990. The effects of tumor necrosis factor on intestinal structure and metabolism. *Annals of surgery*, 212 (6):663-670.
- Vecchione C, Frati A, Di Pardo A, Cifelli G, Carnevale D, Gentile MT, Carangi R, Landolfi A, Carullo P, Bettarini U, Antenucci G, Mascio G, Busceti CL, Notte A, Maffei A, Cantore GP, Lembo G. 2009. Tumor necrosis factor- α mediates hemolysis-induced vasoconstriction and the cerebral vasospasm evoked by subarachnoid hemorrhage. *Hypertension*, 54 (1):150-156.
- Venegas-Pont M, Manigrasso MB, Grifoni SC, LaMarca BB, Maric C, Racusen LC, Glover PH, Jones AV, Drummond HA, Ryan MJ. 2010. Tumor necrosis factor- α antagonist etanercept decreases blood pressure and protects the kidney in a mouse model of systemic lupus erythematosus. *Hypertension*, 56 (4):643-649.
- Verberne AJ, Rand MJ. 1984. Pharmacological activities of the antihypertensive drug urapidil in the rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 11 (4):407-411.
- von Kanel R, Carney RM, Zhao S, Whooley MA. 2010. Heart rate variability and biomarkers of systemic inflammation in patients with stable coronary heart disease: findings from the Heart and Soul Study. *Clin Res Cardiol*.
- Voss A, Schulz S, Schroeder R, Baumert M, Caminal P. 2009. Methods derived from nonlinear dynamics for analysing heart rate variability. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci*, 367 (1887):277-296.
- Voss A, Hnatkova K, Wessel N, Kurths J, Sander A, Schirdewan A, Camm AJ, Malik M. 1998. Multiparametric analysis of heart rate variability used for risk stratification among survivors of acute myocardial infarction. *Pacing Clin Electrophysiol*, 21 (1 Pt 2):186-192.
- Wenckebach KF, Winterberg H. 1927. Die unregelmässige Herztätigkeit. Leipzig,: W. Engelmann.
- Werdan K, Schmidt H, Ebelt H, Zorn-Pauly K, Koidl B, Hoke RS, Heinroth K, Muller-Werdan U. 2009. Impaired regulation of cardiac function in sepsis, SIRS, and MODS. *Can J Physiol Pharmacol*, 87 (4):266-274.
- Wilhelmson B. 1932. Die Schwankungen der Pulsfrequenz bei Belastung des Herzens. *Clinical and Experimental Medicine*, 85 (1):248-261.
- Wolf MM, Varigos GA, Hunt D, Sloman JG. 1978. Sinus arrhythmia in acute myocardial infarction. *Med J Aust*, 2 (2):52-53.
- Xie J, Joseph KO, Bagby GJ, Giles TD, Greenberg SS. 1997. Dissociation of TNF- α from endotoxin-induced nitric oxide and acute- phase hypotension. *Am J Physiol*, 273 (1 Pt 2):H164-174.
- Xuan D, Nicolau DP, Nightingale CH, Quintiliani R. 2001. Circulating tumor necrosis factor- α production during the progression of rat endotoxic sepsis. *Chemotherapy*, 47 (3):194-202.

- Zorn-Pauly K, Pelzmann B, Lang P, Machler H, Schmidt H, Ebelt H, Werdan K, Koidl B, Muller-Werdan U. 2007. Endotoxin impairs the human pacemaker current *I_f*. *Shock*, 28 (6):655-661.
- Zwiener U, Schelenz C, Bramer S, Hoyer D. 2001. Short-term dynamics of relative coordination between respiratory movements, heart rate and arterial pressure fluctuations within the respiratory frequency range. *Physiol Res*, 50 (1):59-69.
- Zwiener U, Hardraht H, Hoyer D, Wicher C, Schubert H. 2004. Vagal blockade only strengthens the respirocardial and cardiovascular decoupling-effects of endotoxin. (Unveröffentlichter Artikel).

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Prof. Dr. Dr. U. Zwiener, Herr Prof. Dr. R. Bauer, Frau Dr. C. Wicher, Herr Dr.-Ing. habil. D. Hoyer,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Kassel, 26.06.2011

Danksagung

Ich möchte all den Menschen danken, die mich während der Entstehung dieser Arbeit auf vielfältige Art und Weise unterstützt haben. Insbesondere danke ich:

Herrn **Prof. Dr. Reinhard Bauer** für die Betreuung, für viele Hinweise, Tipps und Empfehlungen bei der Erstellung dieser Arbeit und die Zeit und Mühe bei der Korrektur des Manuskriptes,

Herrn **Prof. Dr. Dr. Ulrich Zwiener**, der mir bis zu seinem, für mich immer noch unfassbarem Tod, jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand und mich an seinem reichen Erfahrungsschatz teilhaben ließ,

Herrn **Prof. Dr.-ing. D. Hoyer** für die Bereitstellung der Rechenprogramme für die Auswertung,

Frau **Dr. C. Wicher** für die viele Zeit und Mühe bei Organisation, Vorbereitung und Durchführung der Versuche und

meinem Ehemann und meinen Eltern, die mir immer wieder Mut zugesprochen haben.